



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV AUTOMATIZACE A INFORMATIKY

INSTITUTE OF AUTOMATION AND COMPUTER SCIENCE

NÁVRH AUTOMATICKÉ PIPETOVACÍ HLAVY NA PRINCIPU PERISTALTICKÉHO ČERPADLA

DESIGN OF AUTOMATIC PIPETTING HEAD ON THE PRINCIPLE OF PERISTALTIC PUMP

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Petr Čížek

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Radomil Matoušek, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Ústav: Ústav automatizace a informatiky
Student: **Bc. Petr Čížek**
Studijní program: Strojní inženýrství
Studijní obor: Aplikovaná informatika a řízení
Vedoucí práce: **doc. Ing. Radomil Matoušek, Ph.D.**
Akademický rok: 2020/21

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

NÁVRH AUTOMATICKÉ PIPETOVACÍ HLAVY NA PRINCIPU PERISTALTICKÉHO ČERPADLA

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

V oblasti automatizace laboratorních úloh je jednou z důležitých úkolů automatické a přesné dávkování media. Tato práce se bude zabývat rešerší a vlastním návrhem automatického pipetovacího zařízení pro přesné dávkování malých objemů. Při realizaci se předpokládá využití 3D tisku a MCU řízení.

Cíle diplomové práce:

- Rešerše principů konstrukce automatických pipetovacích hlavic.
- Konstrukční a technický návrh pipetovací hlavy dle specifikace, tj. s využitím peristaltického čerpadla, jedna pipetovací špička, vyhazovač, platforma ABB IRB140xx.
- Realizace dle předchozího bodu.
- Praktické experimentální ověření s důrazem na dávkování objemů 200 a 300 ul, opakovatelnost a vyhodnocení chyby.
- Video prezentace navržené pipetovací hlavy, poster.

Seznam doporučené literatury:

VODA, Zbyšek, 2015. Průvodce světem Arduina. Bučovice: Martin Stříž. ISBN 978-80-87106-90-7.

BALOGH, Jaroslav a Petr ČECH, 2009. Řízení peristaltické pumpy přes rozhraní USB: Peristaltic pump control via USB interface. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2020/21

V Brně, dne

L. S.

doc. Ing. Radomil Matoušek, Ph.D.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

ABSTRAKT

Cílem této diplomové práce je návrh a výroba prototypu automatické pipetovací hlavy která bude po připevnění na robotický manipulátor využitelná k pipetování v laboratoři. V úvodu byla provedena rešerše automatických pipetovacích hlav, návrh zařízení a rozbor jednotlivých komponentů. S využitím 3D tisku byl zkonstruován prototyp, který využívá peristaltické čerpadlo, mikrokontroler Arduino a komunikační rozhraní Bluetooth. Na výsledném zařízení bylo provedeno měření opakovatelnosti a přesnosti dávkování tekutiny. Výsledky jsou zhodnoceny v závěru.

ABSTRACT

The aim of this diploma thesis is to design and create a prototype of automatic pipetting head that will be useful for pipetting in laboratories after attaching it to a robotic manipulator. In the beginning, a research about various types of automatic pipetting heads was made followed by a device design and component analysis. The prototype was made using 3D printing method and it utilises a peristaltic pump, Arduino microcontroller and Bluetooth interface. A measurement of repeatability and dispensing accuracy was made on the finished device. The results are evaluated in the conclusion.

KLÍČOVÁ SLOVA

Pipeta, dávkování, peristaltické čerpadlo, mikrokontroler, Arduino, Bluetooth, 3D tisk

KEYWORDS

Pipette, dispensing, peristaltic pump, microcontroller, Arduino, Bluetooth, 3D printing



ÚSTAV AUTOMATIZACE
A INFORMATIKY



2021

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

ČÍŽEK, Petr. *Návrh automatické pipetovací hlavy na principu peristaltického čerpadla*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav automatizace a informatiky, 2021, 60 s. Diplomová práce. Vedoucí práce: doc. Ing. Radomil Matoušek, Ph.D.

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucímu práce doc. Ing. Radomilovi Matouškovi, Ph.D. za odborné vedení při tvorbě práce. Dále děkuji Mgr. Kristýně Kopečné za její cenné rady a Ing. Martinovi Malému za poskytnutí 3D tisku.

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že, že tato práce je mým původním dílem, vypracoval jsem ji samostatně pod vedením vedoucího práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury.

Jako autor uvedené práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následku porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestně právních důsledků.

V Brně dne 21. 5. 2021

.....

Bc. Petr Čížek

OBSAH

1	ÚVOD.....	15
2	PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ	17
2.1	Pipeta	18
2.2	Automatické dávkovací systémy	21
2.2.1	Open Source Pipette	26
2.2.2	Evobot.....	27
3	VLASTNÍ ŘEŠENÍ.....	29
3.1	Výběr komponentů	29
3.2	Návrh a výroba konstrukce	34
3.3	Řešení vyhazovacího mechanismu	38
3.3.1	Mechanismus s elektromagnetem.....	38
3.3.2	Mechanismus s lineárním pohonem	40
3.4	Řízení pipetovací hlavy	41
3.4.1	Program v prostředí Arduino	44
3.5	Zpětná vazba tlaku	45
3.5.1	Kalibrace tlakového senzoru	45
3.5.2	Převod tlaku na objem	48
3.6	Přesnost dávkování	49
4	ZHODNOCENÍ.....	55
5	ZÁVĚR	57
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	59

1 ÚVOD

V moderní laboratoři se při dávkování tekutin neobejdeme bez zařízení, jakým je pipeta. Malé objemy tekutin, v řádu mikrolitrů, je třeba přesně odměřit a přenést na požadované místo bez rizika kontaminace okolí. Klasická ruční pipeta může být nahrazena automatickou pipetovací hlavou s využitím robotického manipulátoru. Takovéto zařízení dokáže zvýšit přesnost dávkování, zkrátit čas potřebný k přesunu více vzorků ale i plně nahradit často náročnou a opakující se práci v laboratoři.

Automatické systémy určené k přesunu a dávkování tekutin využívají různé typy čerpadel, krokových motorů nebo upravené injekční stříkačky. Zařízení navrhované v této práci obsahuje peristaltické čerpadlo, které využívá válečky v rotoru ke stlačení hadičky a tím vytváří potřebný podtlak k nasávání tekutiny. Jako zpětná vazba k vyhodnocení přesného objemu je využito tlakového senzoru, který je napojen na sací hadičku. Aby bylo minimalizováno riziko kontaminace, je tekutina nasávána do jednorázových špiček, které je možné pomocí navrhnutého mechanismu vyměnit za nové. Řízení zajišťuje mikrokontroler Arduino s využitím rozhraní Bluetooth.

Cílem práce je navrhnout konstrukci zařízení a pomocí 3D tisku vytvořit prototyp, který bude umožňovat dávkování objemů 200-300 μl . V závěru bude na tomto prototypu provedeno měření přesnosti dávkování a opakovatelnosti s vyhodnocením chyby.

2 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ

Přesun tekutin je jedna z důležitých činností prováděných v laboratoři. Při experimentech, jako je testování protilátek nebo zjišťování přítomnosti drog, musí být tekutiny několikrát přesouvány z nádob různých velikostí do substrátů v množstvích, které se obvykle pohybují v jednotkách mikrolitrů. Ruční přesun může být zdoluhavý a nepraktický. Automatické systémy přesunu tekutin nacházejí v těchto laboratořích čím dál větší využití. [1]

Základními požadavky pro využití těchto systémů v laboratořích jsou zejména vysoká přesnost, vysoká propustnost a schopnost odměřování velmi malých objemů. V posledních letech se uplatňují hlavně robotické systémy, které slouží v oboru již několik let, ale také zařízení vytvořené přímo na míru k řešení konkrétního problému. Ačkoliv obor laboratorního přesunu tekutin zahrnuje mnoho podoborů, například doplňování, míchání, detekování nebo přepravování, tak automatické dávkování je z nich nejpodstatnější, jelikož je základem téměř všech laboratorních experimentů v přírodních vědách.

Při dávkování kapalin ve velmi malých objemech, mikrolitrech až nanolitrech, je největším faktorem ovlivňujícím přesnost povrchová přilnavost neboli adheze. Všechny systémy automatického dávkování musí překonat tuto přilnavost při nasávání a vypouštění tekutin. V případě tekutin větší viskozity není gravitační síla dostatečně velká, aby uvolnila nasátou kapalinu z odměrné nádoby a je potřeba vyvinout dodatečnou sílu. Různé způsoby řešení působí této síly můžeme rozdělit na dotykové a bezdotykové dávkování. [1]

V dotykovém dávkování dochází k přímému kontaktu kapaliny s dávkovací tryskou. Tento způsob vyžaduje pohyb v ose Z kolmé na dávkovanou plochu a dodatečnou tlakovou sílu, která kapalinu vytlačí. Dávkovací hlava se musí přiblížit velmi blízko k místu kde bude provádět vypouštění tekutiny, jinak by mohlo dojít ke kontaminaci okolního prostoru. K vytlačení tekutiny je využito tlakového pulzu vzduchu z kontrolního zařízení nebo manuálního stlačení pístu aplikátoru. Dotykové dávkování je nejvíce rozšířeno díky své jednoduchosti a nízké ceně provedení. [1]

Výhodou bezdotykového dávkování tekutin je zejména rychlost a přesnost. Tekutina je vymrštna z otvoru nad požadovaným místem dopadu bez nutnosti trysky, která by její proud usměrnila, a nedochází tak při cestě z nádoby do místa určení ke kontaktu s dalším tělesem. Princip této metody je založen na principu inkoustových tiskáren. Uplatňují se zejména tři hlavní metody – s využitím piezoelektrického jevu, zvukových vln nebo elektromagnetu.

Piezoelektrický dávkovač využívá piezoelektrický krystal, který je upevněn kolem dávkovací trubice. Jakmile je na krystal přivedeno napětí, deformuje se, tím vytvoří tlak na kapalinu uvnitř trubice a dojde k vypuštění určeného množství směrem z dávkovače. Přesnost závisí na faktorech, jako je viskozita kapaliny, poloměr trubice, napětí a frekvence přivedeného napětí. Elektromagnetický dávkovač obsahuje solenoid,

což je jednoduchý elektromagnet připojený k ventilu. Přivedením napětí se solenoid aktivuje a otevře ventil, který vypustí kapalinu z dávkovače. Přesnost tohoto zařízení je závislá především na rychlosti otevírání ventilu. Akustický dávkovač vytlačuje tekutinu z dávkovací trubice pomocí soustředěných zvukových vln. Dávkované množství je ovlivněno velikostí přivedené akustické energie. [1]

Moderním způsobem bezdotykového dávkování tekutin může být využití elektrostatických jevů k přesunu mezi dávkovačem a cílovým místem. Ostatní systémy dávkování fungují nejlépe při přesouvání stejného objemu kapaliny do různých cílových nádob, ale jejich přesnost se může snižovat, když je objem rozdílný nebo menší než několik mikrolitrů. Každý dávkovací kanál navíc musí obsahovat vlastní hardware a výrobní cena se výrazně zvyšuje s každým dalším přidaným kanálem. Systémy využívající elektrostatické dávkování mohou dosahovat vysoké přesnosti a jsou schopné přesouvat objemy menší než jeden mikrolitr bez kontaktu tekutiny s dalším zařízením. Mezi dávkovací jehlu a podklad je přiveden elektrický potenciál, který vytvoří elektrické pole. Kapky, které z dávkovací jehly vytékají, jsou elektrickým polem polarizované a vytvořená elektrická síla je přitahuje do cílového místa. Tato metoda může být integrována do již existujících dávkovacích systémů a zvýšit jejich přesnost zejména při přesunu objemu v jednotkách mikrolitrů. [2]

Nejpoužívanějšími zástupci ze skupiny ručních dotykových dávkovacích zařízení je bezpochyby injekční stříkačka a pipeta. Injekční stříkačka je běžně využívána v medicínském prostředí k aplikaci různých množství látek do nádob nebo přímo při interakci s pacienty. Základem její konstrukce je píst, který se pohybuje ve válci, na jehož konci je otvor. Píst je opatřen těsněním mezi ním a stranou válce, které zajistí dostatečné vakuum k nasávání tekutin. Pohybem pístu se nasává nebo vypouští kapalina, jejíž přesné množství se odečte ze stupnice na straně stříkačky. Připojením tenké jehly k otvoru ve válci je docíleno přesnější aplikace.

2.1 Pipeta

Pipeta (obr. 1) je laboratorní nástroj, který slouží k přesnému dávkování tekutin. Pracuje na principu částečného vakua, které nasává tekutinu do úzké nádobky, a po upuštění podtlaku se tekutina opět stejným otvorem vypustí. Vakuum je vytvořeno pohybem pístu uvnitř těla pipety. Tento píst může být ovládán ručně nebo elektronicky. Pohybem pístu nahoru se vytváří podtlak, který zaplní tekutina nasáním dovnitř nádoby a je připravena k přemístění. Jakmile se pipeta nachází nad příslušným místem, podtlak se uvolní a tekutina vyteče ven. [3]



Obr. 1: Laboratorní pipeta [4]

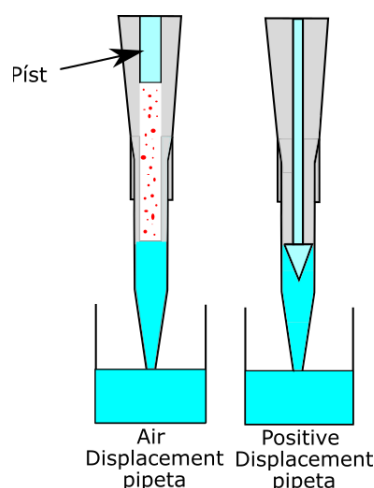
Tekutina je nasávána do jednorázových špiček (obr. 2) nasazených na hrdlo pipety, které se po použití likvidují do příslušného odpadu. Objem standardních špiček se pohybuje v μl . Špičky jsou vyrobeny z plastu v několika velikostech. Velikosti jsou opatřeny barvami pro snadnější rozlišení, například špička pro objem 200 μl je sytě žlutá nebo pro 1000 μl tmavší modrá. Standardně jsou dodávány v krabičkách v desítkách kusů postavené vedle sebe ve vzpřímené poloze, aby je bylo možné pohodlněji nasazovat na automatické pipetovací hlavy.



Obr. 2: Různé rozměry jednorázových špiček [5]

Pipety můžeme dělit na „Air displacement“ a „Positive displacement“. První z nich využívá k nasávání tekutiny vzduchový polštář, který vznikne mezi koncem pístu a hladinou tekutiny. V ideálních podmínkách by se objem nasáté kapaliny rovnal objemu vzduchu nasátého pístem, ale v praxi dochází k rozdílům. Ty mohou být způsobeny viskozitou, smáčivostí, teplotou kapaliny nebo atmosférickým tlakem. Z tohoto důvodu musí být tento druh pipet pravidelně kalibrován, aby bylo zajištěno přesné množství nasávané tekutiny v dané toleranci.

U „Positive displacement“ pipet je menší píst umístěn přímo ve špičce a je v přímém kontaktu s nasávanou kapalinou (obr. 3). Princip je velmi podobný injekční stříkačce. Tento menší píst je při nasazení špičky na pipetu připojen k hlavnímu pístu v těle pipety. Nevzniká tak žádný vzduchový polštář a síla, kterou působí píst, je konstantní a není ovlivněna vlastnostmi nasávané tekutiny. Tento druh se proto využívá pro přesné odměřování zejména velmi viskózní, těkavé nebo korozivní kapaliny a kapaliny s teplotou vyšší nebo nižší, než je ta pokojová. [6]



Obr. 3: Rozdíly v druhu pipet

Viskózní kapaliny, jako je například kyselina sírová, glycerol nebo i koncentrovaná sloučenina DNA, proudí velmi pomalu. Při odebírání vzorku této kapaliny může u „Air displacement“ pipet docházet k tvoření bublin nebo k ulpívání kapaliny na stěnách pipety. Při použití druhého zmíněného typu pipet je síla, kterou píst nasává konstantní, a i velmi viskózní kapaliny jsou nasávány rovnoměrně. Píst při průchodu otře stěny špičky a odstraní případné usazeniny na stěnách.

Těkavé kapaliny, například ethanol, methan nebo aceton, se ve vzduchovém polštáři vytvořeného pístem vypařují a může dojít k rychlému rozpínání výparů, což vede k postupnému vytlačování tekutiny z pipety a tvorbě kapek, které mohou kontaminovat pracovní prostor. U „Positive displacement“ pipet je jednorázový píst ve špičce v kontaktu s kapalinou. Ve špičce se vzduchový polštář nevytváří, proto nemůže dojít k vypařování kapaliny a ke kapání.

Při odebírání vzorku korozivní kapaliny, například koncentrované kyseliny sírové nebo biologického materiálu, může u „Air displacement“ pipet docházet ke korodování pístu nebo těsnících kroužků. U druhého typu pipet je použit jednorázový píst a případné korodující části jsou odstraněny spolu s jednorázovou špičkou. [7]

Pipety mohou mít jedinou špičku nebo více. Multikanálové pipety mají standardně 8 nebo 12 hlav a každá z nich může přenášet stejné množství tekutiny. Každý kanál má svůj vlastní píst, který nasává tekutinu, a nemusíme tak využívat všechny kanály najednou. Pipety s více kanály jsou výhodnější při práci v laboratoři s více vzorky najednou a dokážou lépe optimalizovat práci.

Klasické pipety jsou vyrobeny ze skla nebo plastu. Dříve se tekutina nasávala například balónkem nebo ústy, což bylo velmi nevhodné. Hrozilo poleptání nebo kontaminování vzorku slinami. U manuálních pipet se tekutina uvnitř trubičky udržuje přitisknutím prstu, čímž se trubička utěsní a kapalina zůstane uvnitř, dokud není třeba ji opět vypustit odejmutím prstu. Pipety mohou být kalibrované na jeden objem tekutiny. Nazývají se nedělené, protože nemají na špičce dělenou stupnici, nebo dělené, které jsou po celé délce špičky rozdělené na stejné díly a umožňují nasávat rozdílné objemy. Nedělené pipety jsou přesnější. [8]

Manuální pipety, kde se pohyb pístu reguluje přímo ručně, jsou náchylné k selhání komponent nebo výskytu lidské chyby. Časem také ztrácejí svoji přesnost, na rozdíl od automatických pipet, kde může být přesnost kalibrována například optickou zpětnou vazbou. Při úkonech, kde se vyskytuje několik tisíc vzorků již ani není možné použití manuálních pipet a je nutné nasadit automatické a robotické systémy k přesunu tekutin.

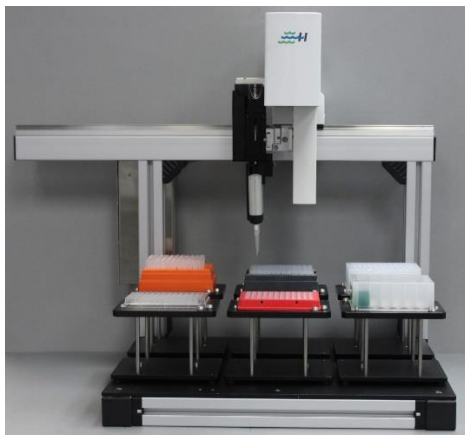
2.2 Automatické dávkovací systémy

Robotické systémy dokážou pracovat bezúnavně a zvýšit tak celkový objem vzorků, které dokáže zařízení zpracovat. Zvyšují také celkovou přesnost a preciznost činností provedených v laboratoři. Některé robotické systémy se zaměřují pouze na dávkování a přesun tekutin do jednotlivých nádobek a ostatní činnosti přenechávají lidským operátorům. Jeden z příkladů těchto systémů může být přístroj Matrix Wellmate od firmy Thermo Fisher Scientific (obr. 4), který umožňuje dávkovat objemy od 1 do 2000 μl . Zařízení lze naprogramovat na požadovaný objem i počet dávkovacích modulů od 6 do 384. Pro kompletní funkčnost a přesnost je nutné zajistit pravidelné čištění, proplachování hadiček a přípravu substrátu na vzorky. [9]



Obr. 4: Matrix Wellmate (Thermo Fisher Scientific) [9]

Příklad systému, který dokáže provádět i další úkony související s dávkováním a přesouváním tekutin, může být přístroj SOLO Liquid Handler od společnosti Hudson Robotics (obr. 5). Umožňuje využít pouze jeden nebo 8 a 12 pipetovacích kanálů a integraci s příslušenstvím, jako jsou vyhřívací a chladičí buňky, inkubátory, myčky, automatické centrifugy, mikročtečky a jiné. [10]



Obr. 5: SOLO Liquid Handler (Hudson Robotics) [10]

Typický robotický systém určený k přesunu a dávkování tekutin se skládá z několika funkčních bloků. Základem je řídicí obvod, kterým může být univerzální mikrokontroler, průmyslové PLC nebo specifický obvod určený přímo pro konkrétní zařízení. Dále obsahuje robotickou část, která přesouvá vlastní dávkovač v prostoru. Krokové motory nebo servopohony jsou použity k přesunu dávkovací hlavy podél kolejnic, pomocí řemene nebo vlastním ramenem. Hlavní částí, která provádí odměřování a dávkování, je dávkovací hlava. Skládá se z elektronické pipety, ovládacího pohonu, čímž může být peristaltická pumpa, solenoid nebo jiné, a senzorů zpětné vazby. Senzory mohou monitorovat stav tekutiny nasávané do nádoby nebo i stav v cílové nádobě, do které má být tekutina dávkována.

Dávkovací hlava je určena k přesnému dávkování jak do dalších částí systému, které kapalinu dál zpracovávají, tak do zkumavek a mikrotitračních destiček, kde v substrátu probíhají určené reakce. Aby se minimalizovalo riziko chemické reakce mezi kapalinou a dávkovací hlavou, a také z důvodu snadnějšího čištění, volí se pro dávkovací hlavu vhodný materiál, jako je ocel nebo čistý polypropylen. Na povrch lze nanést povlak proti korozi a ke snížení tření.

Dávkovací hlava obsahuje také prostředky určené pro kontakt s kapalinou. Nejrozšířenějšími druhy jsou kolíky (obr. 6), jehly a špičky. Kolíky jsou použity, pokud se hlava přímo dotýká povrchu tekutiny. Při doteku kolíku hladiny dojde k přilnutí množství tekutiny ke kolíku a přenesení této kapky na požadované místo. Velikost této kapky je závislá například na tvaru a velikosti kolíku, materiálu a povrchu kolíku a povrchovém napětí tekutiny. Doba kontaktu kolíku s hladinou tekutiny je také rozhodující ve velikosti přenášené kapky. Kolíky dokážou přenášet menší množství tekutiny než pipety, ale mohou ovlivnit a narušit povrchové napětí během dávkování. Některé systémy s kolíky jsou upraveny tak, že jednotlivé kolíky mají částečně volný jeden stupeň volnosti v horizontálním pohybu. Toto vylepšení umožňuje dotyk všech kolíků hladiny v případě její nerovnoměrnosti a zároveň minimalizuje riziko jejich poškození. [1]



Obr. 6: Dávkovací hlava s kolíky [11]

Špičky mohou být jednorázové, podobně jako u manuálních pipet, nebo pevné, které mají zpravidla menší poloměr a dokážou tak dávkovat menší objem. Nevýhodou může být nutnost jejich čištění a vymývání, což může být díky jejich menším průměrům obtížné. Jednorázové špičky poskytují výhodu v jednorázovém použití za cenu vyšších nákladů, ale jsou vhodnější při práci s těžko odstranitelnými tekutinami, jako je například krev nebo barviva. Oproti kolíkům, které musejí doplňovat tekutinu před každým dávkováním, umožňují špičky i jehly dávkovat menší množství do více míst, před nutností doplnění tekutiny, a tím zrychlit celý proces.

V dávkovacích hlavách automatických systémů je důležitým prvkem pohon, který zajišťuje vlastní pohyb tekutiny v zařízení. Pro průmyslové použití se nejčastěji volí pro tento účel automaticky ovládaná injekční stříkačka nebo peristaltická pumpa. Peristaltická pumpa je zařízení, které čerpá tekutinu s využitím otáčení rotoru a deformaci pružné hadičky. Při otáčení rotoru, na jehož obvodu je umístěno několik otočných válečků, dochází ke stlačování hadičky v místě kontaktu. Za tímto místem vzniká podtlak, který nasává další tekutinu do hadičky. Tento proces se nazývá peristaltika a pochází z několika biologických systému včetně trávicího traktu člověka. Popsaný mechanismus umožňuje poměrně přesně regulovat posun kapaliny hadičkou. Množství přečerpané kapaliny je přímo závislé na počtu otáček rotoru. Další výhodou těchto čerpadel je sterilita, protože nedochází ke kontaktu tekutiny s mechanismem čerpadla, pouze se stěnou hadičky. Také z tohoto důvodu je tento typ čerpadel využíván i pro dávkování tekutin ve zdravotnictví. [1]

Druhy peristaltických čerpadel se liší především v provedení jejich rotoru. Základním druhem je rotor s válečky. Při rotaci stlačují válečky silikonovou hadičku, ve které vzniká tímto pohybem rozdíl tlaků a proudění kapaliny. Válečky vytvářejí nižší tření než jiné druhy konstrukce rotorů peristaltických pump, a tím umožňují nižší počáteční moment při rozběhu zařízení. Motory využívané k pohonu čerpadla spotřebovávají méně elektrické energie a jejich rychlostní regulace je jednodušší vzhledem k téměř lineárnímu pohybu válečků. Jednodušší je také případná výměna silikonové hadičky, protože uvnitř čerpadla nemusí být mazivo v prostoru mezi válečky a hadičkou.

Dalším druhem konstrukce peristaltických čerpadel je rotor s odpruženým ramenem. Otáčející se rameno stlačuje hadičku větší silou pouze v místech, kde se

nachází tekutina, a tento pohyb posouvá medium a vytváří proudění. Větší síla pružiny na hadičku umožňuje použití tohoto druhu v aplikacích, kdy je tlak v hadičce až 16 bar. Použitá hadička je vyrobena z odolnějšího materiálu, který odolá tlaku, a zároveň je schopný snést namáhání opakovaným stlačováním. Prostor čerpadla je vyplněn mazivem, jehož funkcí je lubrikace spojů pružiny, ale také minimalizování oděru, který vytváří rameno na hadičce. Podle druhu tekutiny, která bude čerpadlem procházet, je možné zvolit vhodný materiál pro hadičku. Přírodní nebo syntetický kaučuk lze použít pro vodu a v ní rozpustné látky, nitrilovou pryž pro tuky, oleje a palivo, speciální EPDM pryž odolá kyselinám a zásadám nebo silikon pro tekutiny vysokých teplot. [12]

Čerpadlo G328 od firmy Grothen (obr. 7) je typickým příkladem peristaltické pumpy s válečkovým rotorem. Je poháněno stejnosměrným motorem o napětí 12 V a proudu 200 mA. Tři hladké válečky uvnitř těla zajišťují přesun tekutiny s maximálním průtokem 39 ml za minutu. Použitá hadička je vyrobena z měkkého silikonového gelu a má vnější průměr 4 mm a vnitřní 2 mm. Výrobce nabízí i další varianty průměrů hadiček s možnými průtoky 11 nebo až 80 ml za minutu. [13]



Obr. 7: Čerpadlo Grothen G328 [14]

Firma Kamoer nabízí několik řad peristaltických čerpadel. Jejich nejnižší řada je téměř identická se stejným typem od firmy Grothen. Kromě klasických měkkých silikonových hadiček umožňují u některých modelů nahradit silikon materiálem BPT (PharMed). Jedná se o druh polypropylenového termoplastu, který je na pohled neprůhledně béžový. Dokáže si udržet svoji pružnost a tvar v teplotním rozmezí -40 až 135 °C a oproti silikonu disponuje menší propustností pro plyny. Při použití v peristaltickém čerpadle má několikrát větší životnost než standartní používané hadičky a je vhodný k použití mimo jiné i k medicínským aplikacím a do laboratoří.

Řada čerpadel Kamoer KAS (obr. 8) využívá k pohonu pumpy převodovaný stejnosměrný motor nebo krokový motor. Napájení umožňuje 12 V i 24 V s maximálním proudovým odběrem 750 mA. Krokový motor je druh stejnosměrného pohonu, kde je rotace rozdělena na daný počet kroků. Rotor je opatřen permanentními magnety ve tvaru zubů a jeho pohyb není plynulý, ale pohybuje se mezi stabilními polohami. Ve statoru je umístěno několik dvojic elektromagnetů, do kterých se postupně přivádí proud. Řídící elektronika motoru postupně inicializuje jednotlivé elektromagnetické cívky v daném pořadí, které přitahují zuby permanentních magnetů na rotoru. Celý cyklus se opakuje a motor se tak otáčí. Jeho poloha je přesně známá vzhledem k počtu spuštěných cívek.

Lze tak velmi přesně řídit rychlost i polohu krokového motoru. Peristaltická čerpadla ovládaná krokovými motory mají přesnější objem odměřené tekutiny než klasické stejnosměrné motory. Čerpadla v této řadě dosahují průtoku 70 ml za minutu při stabilních otáčkách krokového motoru 250 rpm. [15]



Obr. 8: Čerpadlo Kamoer KAS [15]

Vyšší řada KCS (obr. 9) s krokovými motory o výkonu až 20 W umožňuje dosáhnout průtoku 350 ml za minutu. Firma nabízí varianty peristaltických čerpadel se 3 nebo 6 válečky. Vyšší počet válečků snižuje maximální průtok, ale výrazně zlepšuje přesnost a minimální dávkované množství. Využití tohoto typu může být odměřování nápojů, analýza kvality vody, laboratorní plnění nádob nebo biochemická analýza. Další řady nabízejí například pohon synchronním motorem ze síťového napětí s průtoky až 900 ml za minutu nebo připojení dvou čerpacích modulů k jednomu pohonu. Toto řešení může zdvojnásobit průtok bez ztráty přesnosti v dávkovaném objemu. [15]



Obr. 9: Čerpadlo Kamoer KCS [15]

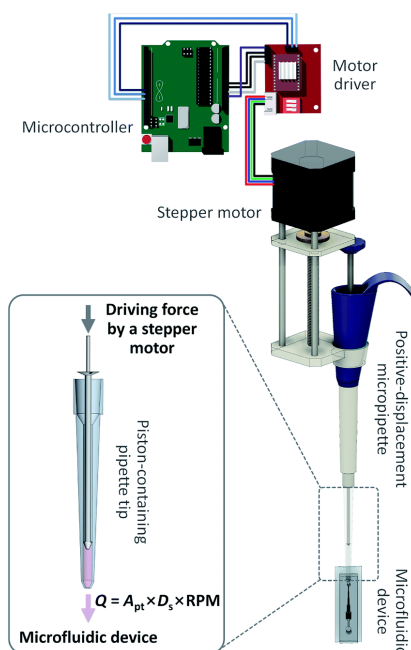
Důležitou součástí každého robotického pipetovacího systému musí být také místo, kam budou tekutiny dákovány, tzv. substrát. Nejčastěji je používána mikrotitrační destička, která je standardizovaná, a obsahuje jamky, ve kterých mohou vložené látky reagovat. Počet jamek může být 96 nebo častěji 384 a každá z nich pojme objem od 1 do 100 μ l. V posledních letech bylo docíleno významnější miniaturizace snížením velikosti jamek, a zároveň zvýšení jejich počtu na destičce stejné velikosti. Mikrotitrační destičky jsou náchylnější na prachové částice ve vzduchu a mikrobublinky nebo vypařování. Při práci

s nimi musí být prostředí okolo pracovního místa vyčištěno a vzduch filtrován, aby nedošlo ke kontaminování vzorku prachovými částicemi, které mohou mít velikost i větší, než je průměr jamky v destičce. Mikrobublínky lze odstranit použitím zvukových vln, které vibrují se substrátem, a bublinky se tak dostávají na hladinu tekutiny. Někteří výrobci mikrotitračních destiček (Aurora Biotechnologies, USA) umísťují na destičku několik speciálních jamek, které se naplní pracovní látkou a kryjí testovací jamky před důsledky vypařování. [1][16]

2.2.1 Open Source Pipette

Jeden z možných způsobů automatického ovládání pipety je s využitím přesných krokových motorů k ovládání pístu. Článek publikovaný v The Royal Society of Chemistry detailně popisuje funkčnost zařízení. Tato automatická pipety kombinuje krokový motor, příslušný řídicí obvod, desku mikrokontroleru a standardní ruční pipetu. Dále také využívá mechanické části, vytvořené pomocí 3D tisku, které spojují díly dohromady, a umožňují výsledné zařízení bezpečně uchopit a pracovat s ním.

Rotace krokového motoru je převedena na lineární pohyb pomocí šroubu, který svou rotací posouvá destičku po vodících tyčích (obr. 10). Tato destička vytváří tlak na píst pipety a postupně ho stlačuje, čímž vytlačuje nebo nasává tekutinu dovnitř. Motor je řízen mikrokontrolerem přes řídicí obvod. [17]



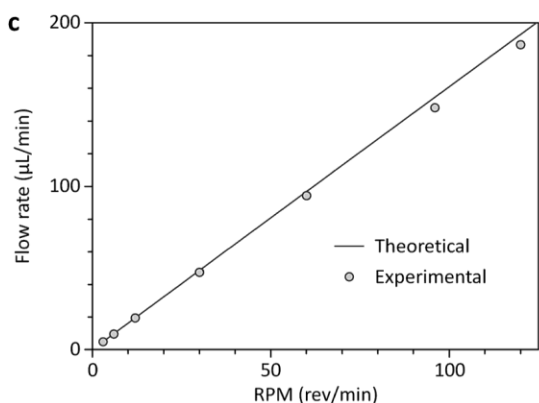
Obr. 10: Schéma automatické pipety [17]

V této pipetě dochází přímo ke kontaktu pístu s nasávanou tekutinou, což umožňuje přesné a plynulé regulování průtoku pomocí otáček krokového motoru. Před použitím nemusí být zařízení kalibrováno a průtok nasávané tekutiny do špičky pipety je předem dán vztahem:

$$Q_0 = A_{pt} * D_s * RPM$$

Průtok (Q_0) je roven ploše průřezu špičky pipety (A_{pt}) vynásobenou rychlostí pohybu pístu. Tato rychlost je dána z principu funkce krokového motoru jako velikost posunu za jednu otáčku (D_s). Vynásobením tohoto posunu otáčkami za minutu (RPM) získáme výslednou rychlost, která je přímo závislá na posunu a celkový průtok tak může být řízen pouze otáčkami bez zpětné vazby.

Řešená pipeta dokáže nasávat tekutiny s průtokem 4,8 až 186,7 μL za minutu. S menšími průtoky je přesnost snížena, z důvodu nižší rychlosti krokového motoru, který nemá při nízkých rychlostech plynulý pohyb. Rozdíl mezi nastaveným průtokem a naměřeným je u této pipety menší než 4,3 %. Na obr. 11 je graf závislosti teoretického a experimentálně naměřeného průtoku na zvolených otáčkách krokového motoru. [17]

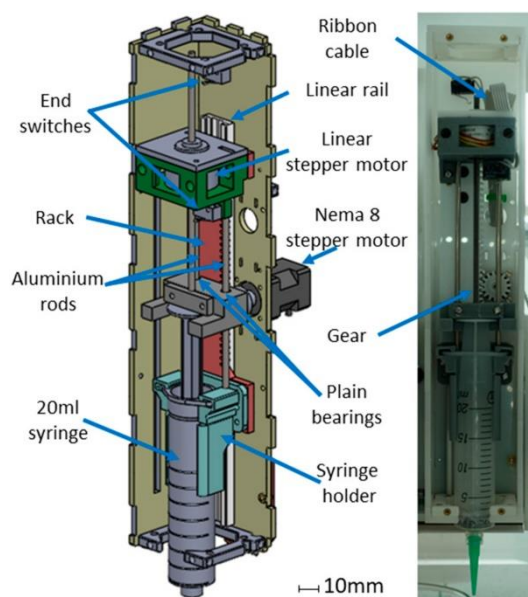


Obr. 11: Graf závislosti průtoku na otáčkách krokového motoru [17]

2.2.2 Evobot

Další z příkladů, jak je možné řešit automatické pipetování, je robotický systém EvoBot, publikovaný v časopise Applied Sciences. Skládá se z modulárních částí, což umožňuje rychlou a relativně jednoduchou výměnu při změně prováděné činnosti. Robot je rozdělen na tři základní části – pohybovou, experimentální a pozorovací. Pohybová část obsahuje hlavu, do které se umísťují jednotlivé moduly, a dva krokové motory, které s ní pohybují v prostoru. Experimentální část se skládá z desky umístěné ve spodní části sestavy, na které probíhají vlastní experimenty. Pozorovací část může být přidána pro monitorování dějů, které probíhají v experimentální vrstvě. Může obsahovat webkameru nebo například mikroskop.

Hlavní výhodou tohoto zařízení jsou již zmíněné moduly. Pro práci s tekutinami je vhodný pipetovací modul využívající injekční stříkačku (obr. 12). K automatickému nasávání a dávkování jsou použity dva krokové motory. První ovládá vertikální pohyb celé stříkačky pro umístění hrotu do hladiny tekutiny. Druhý krokový motor je lineární, umístěn v horní části modulu a určen k ovládání pístu. Soustava s injekční stříkačkou a jejím držákem se pohybuje po vodících tyčích a lineárních ložiscích pro docílení minimálního odporu a usměrnění pohybu pouze na lineární část. [18]



Obr. 12: Pipetovací modul EvoBot [18]

V dalším modulu, určeném k dávkování tekutiny, je využita peristaltická pumpa, která je umístěna na boční straně modulu. V dolní části jsou celkem čtyři trysky k dávkování do více vzorků najedou. Jejich vertikální pohyb je ovládán krokovým motor stejně jako v pipetovacím modulu. Standardní konektor umožňuje připojení více druhů hadiček k dávkovanému mediu.

Elektronika zařízení je řízena mikrokontrolerem Arduino a motorovými řadiči využívanými v 3D tisku. Použití těchto komponentů umožňuje levné a spolehlivé řízení na bázi již vytvořeného open-source softwaru pro ovládání 3D tiskáren. Zařízení může být ovládáno počítačem, například populárním Raspberry-Pi, využívajícím operační systém Linux. S využitím strojového učení a webkamery v pozorovací vrstvě dokáže systém rozeznávat změny v experimentech a podle toho na ně adekvátně reagovat. [18]

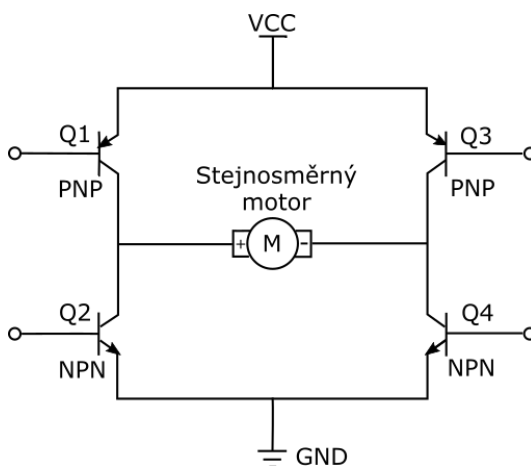
3 VLASTNÍ ŘEŠENÍ

Řešení návrhu automatické pipetovací hlavy popisované v této práci vychází z požadavků zadání. Základem návrhu je konstrukce, která sjednocuje všechny díly a umožňuje uchycení celé hlavy na robotický manipulátor. Jako hlavní prvek umožňující přesun tekutiny bylo zvoleno peristaltické čerpadlo. Celý systém je řízen mikrokontrolerem Arduino a využívá zpětné vazby z tlakového senzoru. Jako způsob komunikace a řízení systému bylo zvoleno rozhraní Bluetooth.

3.1 Výběr komponentů

Aby byla zajištěna správná funkčnost a přesnost dávkování výsledného zařízení, bylo nutné zvolit správné komponenty. Hlavním prvkem je čerpadlo, které nasává tekutinu do špičky umístěné na pipetě. Peristaltické čerpadlo bylo vybráno jako primární díky jeho vlastnostem. Tento druh čerpadla vyniká svojí přesností v dávkování a je schopný po zastavení rotace udržet tekutinu, respektive podtlak v hadičce, díky jejímu stlačení válečky rotoru v jakékoli poloze. Je tedy zajištěno vytvoření podtlaku, který udržuje tekutinu po nasátí ve špičce. Byl vybrán model G328 od výrobce Grothen, který je dostupný v dané cenové kategorii.

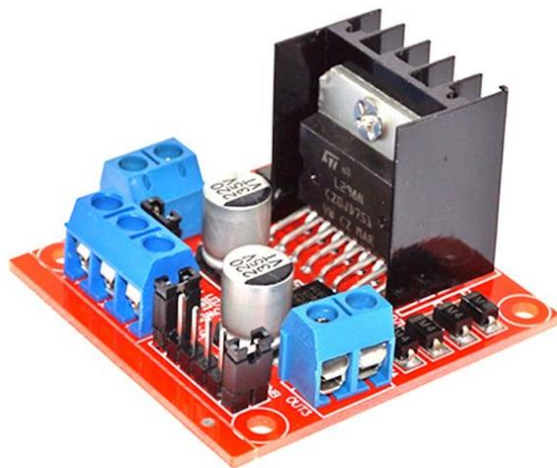
Pro regulaci otáček a možnost zpětného chodu bylo nutné vybrat pro motor čerpadla vhodný řídicí obvod. Motor lze ovládat několika způsoby. S využitím dvou tranzistorů by bylo možné zajistit řízení směru proudu a otáčení motoru. Toto řešení je velmi jednoduché, avšak je třeba zajistit, aby v žádný moment nedošlo k sepnutí více než jednoho tranzistoru. V tomto případě by došlo ke zkratu a vysoký proud by mohl poškodit jak tranzistory, tak i samotný motor. S použitím čtyř tranzistorů v konfiguraci H můstku (obr. 13) je možné zajistit stejné možnosti řízení směru proudu, ale již bez obav o způsobení zkratu napájení.



Obr. 13: Obecné schéma zapojení H-můstku

V případě zapojení H-můstku teče proud do ovládaného motoru ve směru, který je mu poskytnut sepnutými či rozpojenými tranzistory. Pokud přivedeme proud do báze dvou tranzistorů umístěných ve schématu diagonálně, poteče výrazně větší proud do motoru a roztočí ho například po směru hodinových ručiček. Po přivedení proudu do báze dvou předem nepoužitých tranzistorů, poteče proud opačným směrem a motor změní směr otáčení. V případě aktivování všech tranzistorů nepoteče do motoru žádný proud a nebude probíhat žádná rotace. Tato vlastnost H-můstku je zajištěna použitím dvou typů tranzistorů – typem NPN a PNP.

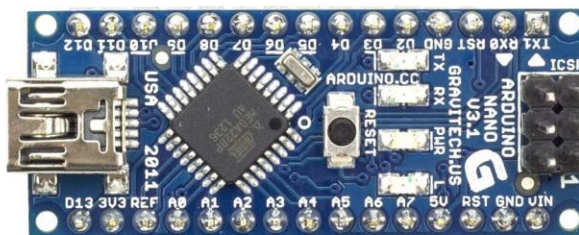
H-můstek je možné sestavit s použitím běžných tranzistorů, ale i MOSFET tranzistorů, které obvykle umožňují spínat i větší proudy. Vhodnějším řešením je využití již vytvořeného řídicího obvodu umístěného v jednom pouzdře. Takovým obvodem může být například vybraný modul s řadičem L298N (obr. 14). Tento motorový řadič disponuje mnoha užitečnými funkcemi. Umožňuje zvolit napájecí napětí až do 46 V, maximální stejnosměrný proud 4 A a obsahuje dva samostatně řízené kanály pro dva motory nebo například jeden krokový motor. [19] Tento obvod je umístěn na desce plošných spojů s dalšími součástkami. Ochranné diody zamezují šíření proudu vzniklého magnetickou indukci v cívkách motoru. Na desce plošných spojů se nachází i lineární regulátor, který vytváří stabilní napětí 5 V, potřebné k napájení samotného obvodu, ale i dalších připojených zařízení. Vyhlašovací kondenzátory stabilizují vytvořené napětí proti kmitání a modul je opatřen šroubovacími terminály, ke kterým je připojen motor a vodiče s řídicími signály.



Obr. 14: Modul pro řízení motorů s obvodem L298N [20]

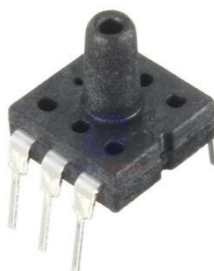
Jako hlavní řídicí jednotka zařízení byl zvolen populární mikrokontroler Arduino (obr. 15). Jedná se o jednodeskový mikrokontroler založený na mikroprocesoru ATmega328 od firmy Atmel. Tento mikroprocesor pracuje na frekvenci 16 MHz a poskytuje celkem 22 digitálních vstupů nebo výstupů, 8 analogových vstupů s integrovaným 10bitovým AD převodníkem a paměť 32 KB pro uložení programu. [21] Kromě těchto funkcí disponuje také velmi malými rozměry, nízkou hmotností a malou pořizovací cenou.

Arduino využívá vlastní software k nahrávání kódu programu do paměti mikrokontroleru. Arduino IDE poskytuje prostředí pro psaní programu ve vlastním programovacím jazyku založeným na jazyku C. Kromě toho lze v prostředí využívat různých předem vytvořených knihoven nebo například sledovat sériovou linku a vykreslovat přenášené hodnoty do grafu. Deska mikrokontroleru obsahuje samostatný integrovaný obvod pro převod USB rozhraní na sériovou linku. Pro nahrání nového programu stačí pouze připojit zařízení přes USB kabel do počítače. Integrovaný na desce je i napěťový regulátor pro 5 V, který umožňuje napájet desku napětím v rozmezí 7-12 V.



Obr. 15: Mikrokontroler Arduino ve verzi Nano [22]

Dalším důležitým prvkem řešené pipetovací hlavy je tlakový senzor. Bylo nutné zvolit vhodný senzor tlaku pro zajištění zpětné vazby dávkovacího systému. K dispozici byl tlakový senzor s označením MPS20N0040D (obr. 16). Tento senzor umožňuje měřit hodnotu absolutního tlaku od 0 do 40 KPa. Je umístěn v 6pinovém pouzdře určeném k připojení do desky plošných spojů. Výrobce udává jeho přesnost $\pm 0,25 \%$. [23] Je vyroben technologií MEMS, což je miniaturizovaná součástka, ve které je integrován senzor. Tento způsob výroby zajišťuje nízké náklady a velkou miniaturizaci výsledného zařízení.



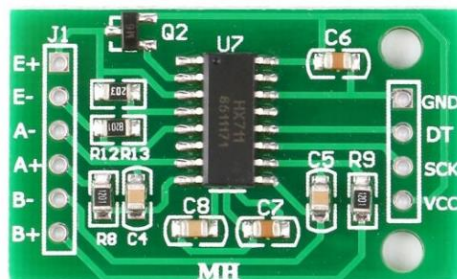
Obr. 16: Tlakový senzor MPS20N0040D [24]

Uvnitř senzoru jsou čtyři proměnlivé odpory s impedancí 4 až 6 k Ω sestavené v diferenciálním zapojení. Vývody z každého uzlu jsou vedeny na výstupní piny senzoru. Takovéto zapojení zajišťuje minimalizaci rušení a chyby měření. Dva z pinů senzoru jsou využité jako vstup, kam je přivedeno napájecí napětí 5 V. Další tři piny jsou zapojeny jako výstupy, přičemž dva z nich jsou mezi sebou propojeny, protože patří ke stejnému uzlu. Poslední zbývajcí pin na pouzdře je nevyužitý a není propojen s žádným odporem. [23]

Aby bylo možné měřit tímto senzorem tlak, je nutné převést analogové hodnoty napětí na výstupních pinech na diskretní digitální hodnoty. Součástí použitého mikrokontroleru Arduino je AD převodník s přesností 10 bitů. Napětí na výstupech senzoru se pohybuje v řádech milivoltů a tento rozsah by nebyl dostatečně přesný, aby zachytil malé změny v hodnotách tlaku. 10bitový převodník umožňuje rozdělit vzorkované napětí na 2^{10} dílů, což je při napětí 5 V rozlišení 4,8 mV. Toto napětí není dostatečně malé a z tohoto důvodu byl přidán do obvodu AD převodník s přesností 24 bitů. Při této přesnosti můžeme napětí rozdělit na 2^{24} dílů, tedy 2,98 μ V na dílek.

Obvod HX711 (obr. 17) obsahuje velmi přesný 24bitový AD převodník určený primárně pro využití v elektronických váhách, které pracují s podobným systémem proměnlivých odporů zapojených v diferenciálních párech. Zmíněný obvod poskytuje dva kanály pro vstup a napájení senzoru. Umožňuje zvolit dodatečné zesílení měřeného napětí a pomocí filtrů minimalizuje vzniklý šum. Jeho napájecí napětí je v rozsahu 3-5 V a výstup probíhá pomocí datového pinu a hodinového signálu. [25]

K použití v řešené pipetovací hlavě byl zvolen modul, který obsahuje obvod HX711 na desce plošných spojů společně s komponenty nutnými pro správnou funkci obvodu. Deska umožňuje využít na jedné straně všechny vstupní piny a napájení pro dva měřené kanály a na straně druhé napájení obvodu a výstupní digitální rozhraní. Samotný tlakový senzor byl připojen na desku plošných spojů a opatřen spojovacími vodiči, které byly propojeny s deskou převodníku. Do převodníku bylo přivedeno napájecí napětí a datový a hodinový signál byl propojen s řídicím mikrokontrolerem.

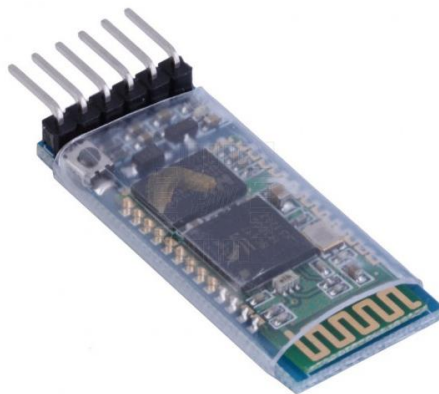


Obr. 17: Deska plošných spojů s obvodem HX711 [26]

Aby se minimalizovalo množství vodičů potřebných k řízení automatické pipetovací hlavy z vnějšího prostředí, bylo rozhodnuto o využití bezdrátové komunikace standardu Bluetooth. Komunikace v tomto standardu probíhá v pásmu 2,4 GHz stejně jako například domácí síť Wifi. Zařízení Bluetooth vysílají na několika výkonových úrovních podle nutného dosahu signálu a možnostem odběru proudu. Použitá topologie sítě je Point-to-point a ve verzi 2.0 dokáže síť přenášet data rychlostí až 3 Mb za sekundu. [27] Samotný mikrokontroler toto bezdrátové rozhraní nepodporuje, tudíž bylo nutné zvolit vhodný doplňující modul.

Bluetooth modul HC-05 (obr.18) je dostupným a populárním rozhraním pro mikrokontrolery. K full-duplex komunikaci využívá sériovou linku o rychlosti 9600 Baudů a jeho signál může mít dosah až 100 m v ideálních podmínkách. K modulu

může být připojen počítač disponující rozhraním Bluetooth nebo mobilní zařízení. Čtení a odesílání dat probíhá přes sériový terminál. Modul je napájen standardním napětím 5 V a jeho proudový odběr je 30 mA. K mikrokontroleru se připojuje pomocí dvou vodičů Tx a RX, které zajišťují přijímání a odesílání dat. [28]

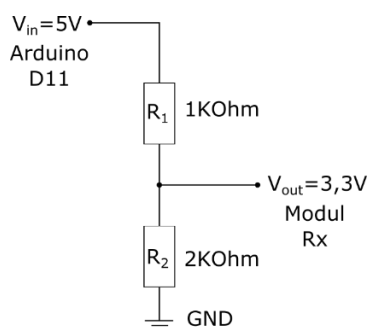


Obr. 18: Bluetooth modul HC-05 [29]

Maximální logické napětí na datových pinech není napájecí, ale pouze 3,3 V. Z tohoto důvodu bylo nutné snížit napětí na jednom z komunikačních vodičů, na kterém probíhá komunikace směrem z mikrokontroleru do modulu, aby se předešlo případnému poškození vyšším napětím. Druhý vodič, který komunikuje směrem z modulu do mikrokontroleru, toto opatření nevyžaduje. Mikrokontroler Arduino dokáže registrovat logické napětí v úrovni 3,3 V. Mezi modul a vodič byl vložen obvod napěťového děliče. Hodnoty jeho odporů je třeba určit tak, aby byl schopen převést logické napětí 5 V na napětí 3,3 V. Hodnoty lze vypočítat z následujícího vztahu (1) po úpravě z Ohmova zákona.

$$V_{out} = \frac{R_2}{R_1 + R_2} \times V_{in} \quad (1)$$

V_{out} reprezentuje žádané výstupní napětí ve Voltech, v tomto případě 3,3 V, V_{in} odpovídá napětí, které do obvodu vstupuje, 5 V. Pokud zvolíme hodnotu jednoho z odporů v Ohmech, lze po úpravě rovnice získat přibližnou hodnotu druhého odporu. V tomto případě byla zvolena hodnota odporu $R_1 = 1 \text{ k}\Omega$ a $R_2 = 2 \text{ k}\Omega$. Zapojení obvodu s děličem napětí je na následujícím schématu (obr. 19).

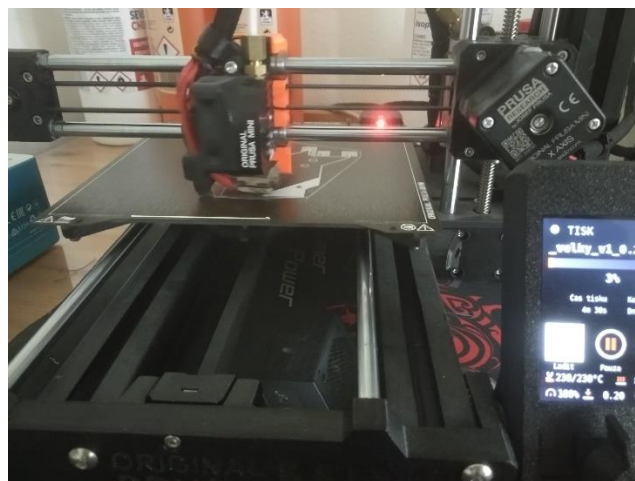


Obr. 19: Schéma zapojení napěťového děliče

3.2 Návrh a výroba konstrukce

Konstrukce pipetovací hlavy vyžaduje výrobu několika specifických modelů. Existuje několik možných způsobů, jak modely zkonstruovat. Vzhledem k jejich specifickým rozměrům, relativně složitým detailům a nenáročným požadavkům na pevnost bylo rozhodnuto využít 3D tisk.

3D tisk je dnes již velmi rozšířeným a populárním procesem pro rychlou a levnou výrobu prototypů. Využívá technologii aditivní výroby, kde tisková hlava přidává vrstvy materiálu na sebe, a tím vytváří výsledný objekt. Materiálem je termoplast, který se zahřátím roztaví, a je možné ho pokládat ve vrstvách, a tím jej spojovat. Populárními materiály jsou například PLA nebo ABS, ale je možné využít i tekutý kov nebo sklo. Jedním z výrobců, kteří zpopularizovali 3D tisk u nás i ve světě, je česká firma Prusa Research.



Obr. 20: Průběh 3D tisku na tiskárně Prusa Mini

Před tiskem je nutné vytvořit model výrobku v některém z 3D CAD programů. Tvorba modelu začíná načrtnutím geometrických profilů v 2D prostoru pomocí vektorových křivek a tvarů s předem danými rozměry. S využitím dostupných nástrojů se poté profily vytahují do 3D prostoru a získávají svojí výslednou podobu. Populárními 3D CAD softwary jsou například Solidworks od společnosti Dassault Systèmes, SketchUp vyvinutý společností Google nebo programy Inventor a Fusion 360 od společnosti Autodesk. Veškeré modely pro tuto práci byly konstruovány v programu Autodesk Fusion 360 zejména z důvodu jeho uživatelské přívětivosti a jednoduchému ovládání.

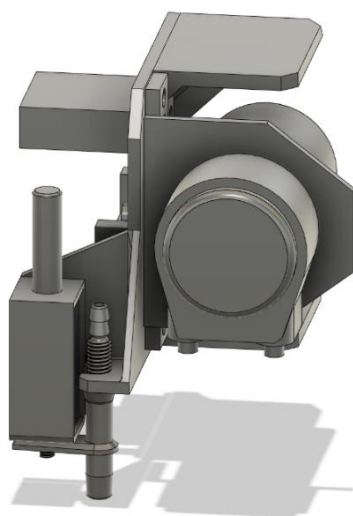
Vytvořený 3D model musí být pro tiskárnu převeden do souboru souřadnic pro tiskovou hlavu. Pro plánování dráhy nástroje se v oboru CNC využívá G kód. Tento soubor instrukcí řídí pohyb nástroje, v tomto případě hlavy 3D tiskárny, v prostoru kartézských souřadnic. Výrobci tiskáren nabízejí vlastní software, který převádí vytvořené modely na instrukce, ale existují i nezávislá řešení. Po vložení 3D modelu lze zvolit více parametrů důležitých pro správné provedení tisku. Podle typu tiskárny můžeme určit výšku vrstvy, druh materiálu, jeho teplotu tavení nebo orientaci modelu

v prostoru. Dále můžeme nastavit styl výplně uvnitř modelu a umístění podpěr na místa, kdy by docházelo k převisu a nový materiál by pod sebou neměl vrstvu, ke které by přilnul (obr. 21). Tyto podpěry mohou být vytisknuty z jiného materiálu než model v případě tiskáren s možností změny materiálu v průběhu tisku. Využívají se materiály, které jsou snadno odstranitelné, například rozpustné ve vodě nebo v alkoholu. Populárním softwarem na přípravu 3D modelu k tisku je například PrusaSlicer založený na open-source projektu Slic3r.



Obr. 21: Podpěry na vytisknutém dílu

Jako hlavní konstrukční prvek byl vytvořen držák motoru čerpadla, elektroniky a solenoidové cívky. Skládá se z větší rovné plochy, kde je z jedné strany připevněno čerpadlo a z protější strany řídicí obvod motoru a solenoidu. Na okraji jsou umístěny dva otvory průměru 4 mm pro šrouby spojující čerpadlo a držák. Stejným způsobem je připevněna deska řídicího obvodu, čtyřmi šrouby velikosti M3. Vedle desky je taktéž připevněn tlakový senzor, který se nachází na vlastní desce plošných spojů opatřené dvěma otvory pro šrouby. Zde jsou použity samořezné šrouby velikosti M2 z důvodu nedostatku místa na protější straně držáku pro matky šroubů.

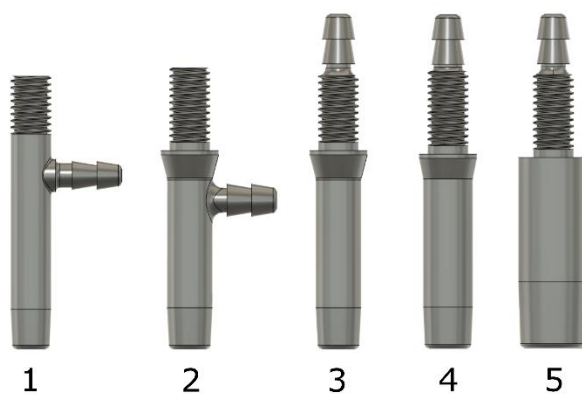


Obr. 22: Prvotní model pipetovací hlavy

Stejnými šrouby jako je připevněn řídicí obvod motoru je uchycen další držák, který je umístěn na horní straně modelu kolmo k popisovanému držáku čerpadla. Tento držák je opatřen podpěrami a bude využit k připevnění celé hlavy k robotickému systému. Pod motorem čerpadla se nachází pomocný držák elektroniky umístěný kolmo k hlavnímu držáku čerpadla. K upevnění jsou využity šrouby spojující řídicí obvod motoru k držáku čerpadla a bude na něj umístěn hlavní řídicí mikrokontroler a AD převodník pro tlakový senzor.

Mechanismus vymrštění se skládá ze solenoidu, který je připevněn dvěma šrouby velikosti M2 na výstupku kolmém k hlavnímu držáku. Na jeho výsuvném jádru je připevněna vymršťovací destička, na které je otvor pro pipetu. Pro různé průměry pipet je nutné destičku vyměnit za kus s odpovídajícím otvorem. Mezera mezi otvorem a povrchem pipety je dostatečná a neprobíhá významnější třetí mezi těmito modely, čímž dochází k plynulému pohybu destičky směrem ke špičce.

Pipeta je druhým nejdůležitějším komponentem modelu. Její rozměry se odvíjí od rozměrů jednorázových špiček, které se budou nasazovat. Pro toho použití byly zvoleny špičky o maximálním objemu 200 μ l a 1000 μ l. Tyto špičky mají rozdílné průměry, a proto bylo nutné vytvořit dvě různé verze pipet, které bude možno vyměňovat. Obě pipety mají stejný způsob uchycení ke zbytku modelu. Metrický závit o průměru 5 mm byl vymodelován na každé z nich a v držáku pipety byl umístěn otvor odpovídajících rozměrů. Stabilní uchycení pipet zajišťuje matice našroubovaná na závit a zvětšený poloměr, který na pipetě tvoří protikus, a po utažení matice ji drží pevně na místě. Při 3D tisku nebylo dosaženo dostatečné přesnosti při výrobě závitu, a proto bylo nutné jej znovu vyřezat s pomocí závitového očka. Částečně vytisklý závit napomáhal při průchodu očka, a díky tomu byl proces řezání závitu velmi snadný.



Obr. 23: Vývoj tvaru modelů pipet

Tvar pipety je přímo odvozen od rozměrů a tvaru jednorázových špiček. Ústí vytvořené pipety má kónický tvar, aby bylo možné špičku lépe odhodit a snadněji opět nasadit. Následuje podlouhý trubkovitý tvar konstantního průměru, po kterém se pohybuje vyhazovací mechanismus. V prvních verzích pipety bylo napojení na hadičku k čerpadlu umístěno kolmo na vertikální osu, aby se minimalizovala délka hadičky. Toto řešení bylo

vyhodnoceno jako nevhodné, kvůli křehkosti vytištěných dílů v místech napojení i kvůli obtížnosti samotného tisku těchto tvarů. V dalších verzích pipet je napojení řešeno ve vertikální ose pomocí několika soustředných kónických útvarů, na které se hadička navlékne. Tento tvar usnadňuje samotné navléknutí, udržuje hadičku pomocí zvětšeného průměru na místě, poskytuje dostatečné utěsnění spoje a zabraňuje samovolnému vyklouznutí hadičky.

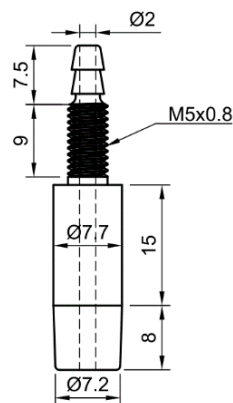
Po vyjmutí dílů z 3D tiskárny je povrch pipet jemně vroubkovaný (obr. 24). To je způsobeno jednotlivými vrstvami materiálu, který je kladen tiskovou hlavou na sebe. V případě pipet je potřeba dosáhnout určité drsnosti povrchu zejména v kritických místech, kam bude připojena jednorázová špička. Bylo nutné povrch po tisku opracovat různými způsoby, aby byla zaručena těsnost v místě styku při použití zařízení.



Obr. 24: Pipeta po vyjmutí z 3D tiskárny

První fází opracování povrchu bylo obroušení tvaru na příslušný rozměr. Vzhledem k vlastnostem 3D tisku není možné dosáhnout přesných rozměrů daných modelem obzvláště v případě velmi malého modelu, jakým byla vyráběná pipeta. Tisknutý model byl zvětšen o několik milimetrů v místech náročných na přesnost. Pomocí jemných brusných papírů byl průměr snižován až na přesný rozměr pro použitou jednorázovou špičku. Bylo nutné zajistit zachování kruhové tvaru řezu pipety. Ta byla nejdříve upevněna do sklíčidla vrtačky a opracovávána, jako by se jednalo o soustruh. Poté byl z důvodu křehkosti dílu smirkový papír aplikován pouze v ruce krouživými pohyby, dokud nebyl povrch dostatečně jemný.

Dále bylo využito vlastností acetonového rozpouštědla k úpravě povrchu. Acetonové výpary rozpouští materiály, jako jsou plasty ABS nebo ASA, ze kterých je pipeta vytisknuta. Aceton byl na pipetu aplikován ve velmi malých dávkách pomocí jemného štětce v dobře větraném prostoru. Působením výparů je povrch naleptán a jednotlivé vrstvy materiálu jsou spojeny a vyhlazeny. Bylo nutné dodržet malé dávky acetonu, které působily pouze několik sekund, než se vypařily. Výsledný povrch je jednolitý a vyhlazený.



Obr. 25: Finální rozměry vyrobené pipety

3.3 Řešení vyhazovacího mechanismu

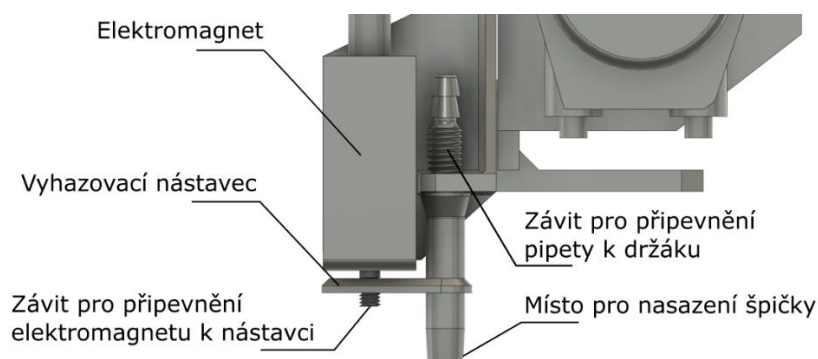
Aby bylo možné zajistit automatickou výměnu jednorázových špiček pro minimalizaci kontaminace dávkovaných látek, bylo nutné navrhnout a zhotovit mechanismus, který bude použité špičky odstraňovat. První z návrhů mechanismu využívá elektromagnet ve formě solenoidu spolu s vyhazovacím nástavcem. Druhá verze mechanismu obsahuje krokový motor s lineárním posuvem, přídatné rameno a vodící tyč na protější straně.

3.3.1 Mechanismus s elektromagnetem

Solenoid je jednoduchý typ elektromagnetu kruhového tvaru, který obsahuje hustě navinuté závity v celé jeho šířce a pohyblivé jádro. Délka solenoidu je násobně větší než jeho průměr. Proud procházející cívkou vytváří magnetické pole a to přitahuje jádro do středu cívky. Magnetické pole udržuje jádro ve středu cívky, dokud není napětí odpojeno a pružina umístěná na jádru ho nepřitáhne zpět do výchozí polohy.

Vybraný solenoid pro aplikaci v této práci je typu JF-0530B od čínského výrobce. Udávané jmenovité stejnosměrné napětí je 12 V při maximálním proudu 1 A protékajícím cívkou. Maximální proud by cívkou neměl protékat déle než několik sekund, jinak by teplota vinutí mohla překročit únosnou teplotu izolace, došlo by k jejímu roztavení a případně i ke zkratu. Tento solenoid umožňuje zdvih pohyblivého jádra do vzdálenosti 10 mm s maximální silou 5 N, což odpovídá váze 0,5 kg. [30]

Mechanismus vyhazování se skládá z již zmíněného solenoidu, který je k držáku pipety připevněn dvěma šrouby M2, a vyhazovacího nástavce, který byl vymodelován a vytisknut pomocí 3D tisku. Nástavec je na jedné straně připevněn k pohyblivému jádru solenoidu a na druhé obsahuje otvor, kterým prochází pipeta. Hranou tohoto otvoru je vytlačována špička směrem z pipety. Toleranci mezi průměrem otvoru a průměrem těla pipety bylo nutné zvolit tak, aby nedocházelo k nežádoucímu tření, ale aby byla poskytnuta dostatečná plocha pro kontakt se špičkou.



Obr. 26: Model vyhazovacího mechanismu s elektromagnetem

Řízení pohybu elektromagnetu probíhá přes druhý kanál H-můstku, který řídí pohyb elektromotoru čerpadla. Tento řídicí obvod disponuje dostatečným výkonem, pro dlouhodobou zátěž proudem až 2 A na jeden kanál. Avšak při spínání elektromagnetu může docházet ke krátkodobým proudovým špičkám vyššího proudu po dobu několika milisekund. Jelikož se jedná o indukční zátěž je nutné zajistit ochranu proti zpětnému proudu, který cívka vytváří. Použitý obvod H-můstku L298N již obsahuje několik výkonných diod, které ochrání ostatní elektroniku a není třeba dodatečně tyto diody do obvodu zapojovat.



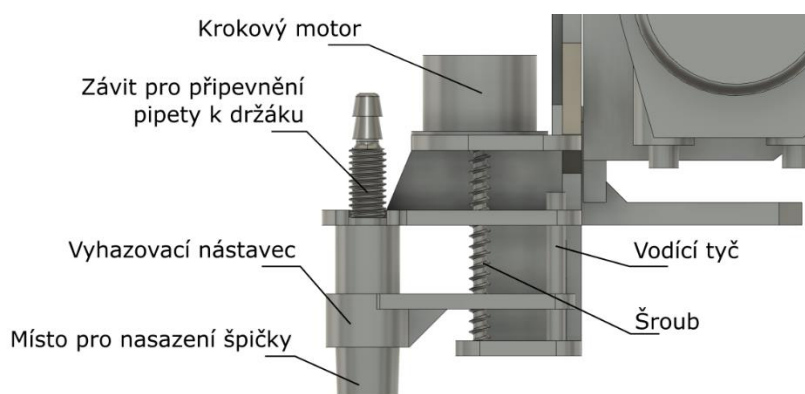
Obr. 27: Sestavený vyhazovací mechanismus s elektromagnetem

Alternativně by bylo možné zajistit řízení tohoto elektromagnetu pomocí samostatného obvodu s tranzistorem typu MOSFET, který je schopný spínat zátěž o proudech až několika desítek ampér. K tranzistoru by bylo nutné připojit vhodnou diodu k zajištění ochrany proti zpětnému proudu a limitující odpor na řídicí pinu *gate*, který by byl připojen přímo k řídicímu mikrokontroleru.

3.3.2 Mechanismus s lineárním pohonem

Druhou možností, jak řešit mechanismus pro vyhazování jednorázové použité špičky z pipety, je s využitím lineárního pohonu na krokovém motoru. Tento typ motoru obsahuje na rotoru připevněnou osu s vytvořeným závitem. Často se jedná o palcový lichoběžníkový závit ACME s vrcholovým úhlem 29° . Od klasického metrického závitu se liší mimo jiné tvarem profilu. Lichoběžníkový tvar umožňuje přesun většího momentu a zajišťuje plynulejší pohyb matice při větší rychlosti otáčení.

Použitý krokový motor byl získán z mechanismu posouvání čtecí hlavy v disketové mechanice počítače. Spolu s motorem byla z mechanismu získána i vodící tyč a upevňovací šrouby. Podle rozměrů mechanismu byl navržen a vytvořen držák motoru a vodící tyče, ke kterému je připevněna pipeta a ostatní zařízení (obr. 28). Celková použitelná délka šroubu je 27 cm, ke kterému je připevněn vyhazovací nástavec. Tento nástavec plní funkci vytlačení jednorázové špičky z pipety. Na jedné straně je otvor pro pipetu, která nástavcem prochází, uprostřed je pevné spojení se šroubem a na protější straně je otvor, ve kterém se pohybuje vodící tyč. Pevné spojení může být zajištěno přidáním odpovídající matice do otvoru nebo vložením součástky přibližného tvaru jako profil závitu. Tato součástka zajišťuje posouvání nástavce spolu s otáčením šroubu tak, že se při stoupání nebo klesání závitu pohybuje s ním.



Obr. 28: Model vyhazovacího mechanismu s lineárním pohonem

K řízení krokového motoru je nutné použít samostatný obvod. Vybraný modul (obr. 29) obsahuje dva integrované obvody L9110S a další potřebné pasivní součástky. Je určen k řízení dvou stejnosměrných nebo jednoho krokového motoru. Obsahuje dva kanály a na každém z nich umožňuje maximální proud 800 mA. Vzhledem k malému odběru zvoleného krokového motoru je tento proudový limit dostatečný. Vstupní napětí je stejné jako napájecí napětí pro motor a pohybuje se v rozmezí 2,5-12 V. [31]



Obr. 29: Modul řízení krokového motoru s obvody L9110S [32]

Krokový motor obsahuje čtyři vývody z každé strany jeho dvou cívek. Tyto vývody jsou zapojeny do obou kanálů modulu. K řídicímu mikrokontroleru Arduino je modul připojen pomocí čtyř signálových vodičů. Napájení je vyvedeno z napěťového regulátoru umístěného na druhém modulu řídicí motor čerpadla. Tento regulátor umožňuje odebírat proud až 1 A, což je k tomuto použití dostačující. Řízení směru otáčení probíhá v mikrokontroleru podle zvoleného pořadí spínání cívek motoru. Rychlost je ovlivněna časem mezi jednotlivými změnami pořadí cívek.



Obr. 30: Sestavený vyhazovací mechanismus s lineárním pohonem

3.4 Řízení pipetovací hlavy

Aby bylo možné přesně nasávat a vypouštět tekutinu pomocí této navrhované pipetovací hlavy, bylo nutné propojit a nakonfigurovat jednotlivé prvky zařízení. Hlavním řídicím prvkem je mikrokontroler Arduino. Tento řídicí člen je zodpovědný za ovládání směru a rychlosti motoru čerpadla spolu s jeho řídicím obvodem. Dále ovládá vyhazovací mechanismus, čímž může být elektromagnet nebo krokový motor. Jeho poslední funkcí je reakce na instrukce z bezdrátové komunikace z modulu Bluetooth.

Rychlost motoru čerpadla a doba po kterou je spuštěn, přímo ovlivňuje množství nasáté kapaliny. Plný výkon čerpadla by neumožňoval odměřit kapalinu s dostatečnou

přesností a z důvodu velké rychlosti proudění by mohlo docházet ke vzniku nežádoucích bublin vzduchu v tekutině. Naopak při malé rychlosti otáčení motoru by docházelo k prokluzování rotoru čerpadla kvůli nedostatečnému momentu pro překonání tlaku hadičky. Žádané rychlosti motoru čerpadla můžeme docílit s využitím pulzně šířkové modulace (PWM).

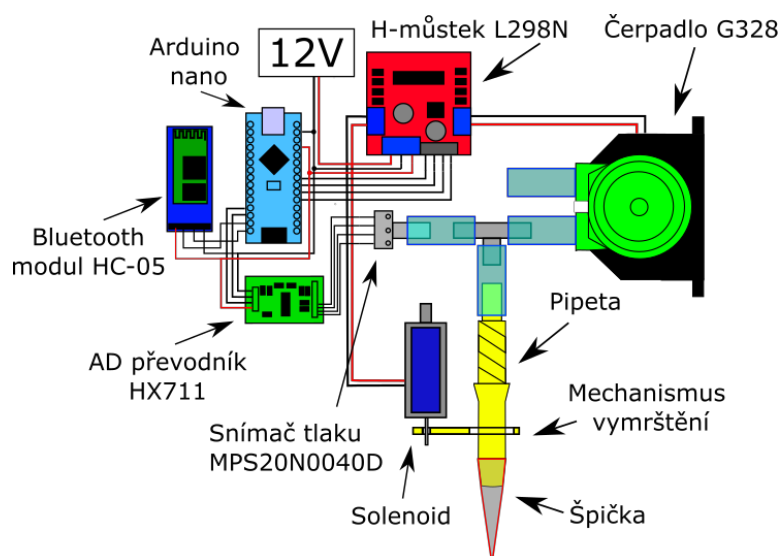
Tento způsob řízení moduluje signál na digitálním výstupu mikrokontroleru tak, že vystupuje jako analogový. Dochází k přepínání mezi logickou hladinou 0 a 1 s periodou několika stovek Hz. Poměr mezi logickými hladinami je nazýván střída a určuje výsledné modulované napětí. V případě mikrokontroleru Arduino je základní perioda pro PWM 480 Hz a na dvou výstupech až 980 Hz. [33] Modulované napětí je pro indukční zátěž, jako je motor čerpadla, vnímáno jako konstantní napětí, které je nižší než nominální, a motor se točí pomaleji. PWM signál z mikrokontroleru je převeden do H-můstku pro motor, kde dochází ke spínání vstupu označeného jako *enable* a tím dojde k přerušení napájecího napětí 12 V do motoru podle dané střídy.

Směr pohybu motoru je řízen vstupním signálem do H-můstku. Vstup označený jako *IN1* propojí motor s napájecím napětím v jedné polaritě, vstup *IN2* v polaritě opačné. Oba tyto vstupy jsou řízeny logickým signálem 5 V. Zbylým vstupem *IN3* je zajištěno spuštění solenoidu v případě vyhazovacího mechanismu s elektromagnetem. Tento vyhazovací pulz trvá pouze několik milisekund, aby nedošlo k přehřátí solenoidu.

Řízení vyhazovacího mechanismu v případě lineárního pohonu probíhá s využitím modulu pro krokový motor. Ke vstupním pinům *A-IA*, *A-IB*, *B-IA* a *B-IB* jsou připojeny vodiče od jednotlivých cívek motoru. Změnou pořadí a rychlostí přepínání vstupů ovládá mikrokontroler směr a rychlost pohybu. Rotace motoru je řízená přesně, jelikož je známý počet kroků k docílení jedné rotace.

Komunikace s modulem Bluetooth rozhraní probíhá po sériové lince, kterou představují dva vodiče, *TX* a *RX*. Po aktivaci modulu je možné připojit klientské zařízení, které bude s modulem komunikovat. Ovládání probíhá pomocí odesílání datových řetězců v terminálu sériové linky. Mikrokontroler řetězce zpracovává a podle jejich hodnot provádí příslušné operace.

Na obr. 31 je schéma zapojení všech komponentů navrhovaného zařízení. K pipetě je připevněna krátká hadička vedoucí do spojovacího prvku tvaru „T“. Z něj je vedena pružná silikonová hadička do peristaltického čerpadla, které je napájeno z H-můstku, a na druhé straně je připojen snímač tlaku. Jeho vodiče jsou přivedeny do AD převodníku, který je propojen s řídicím mikrokontrolerem. Bluetooth modul a H-můstek jsou připojeny signálními vodiči do mikrokontroleru. Vstupní napětí 12 V je přivedeno do modulu H-můstek, kde je pomocí regulátoru převedeno na napětí 5 V, které napájí ostatní komponenty.



Obr. 31: Schéma komponentů a zapojení s elektromagnetem

Příklad řízení přes rozhraní Bluetooth může být aplikace v chytrém telefonu. Pomocí ní může být nastavován požadovaný objem i odesílány příkazy pro nasávání, vypouštění a odhazování špiček. Několik aplikací, které umožňují odesílání dat přes sériovou linku rozhraní Bluetooth, je ke stažení zdarma pro operační systém Android v obchodě Google Play.

V příkladu aplikace na obr. 32 je řídicí rozhraní i monitorující graf. Ve spodní části rozhraní je možné si nastavit předem vytvořená tlačítka a ke každému určit řetězec, který bude na sériovou linku po stisknutí odeslán. Tlačítko označené jako „IN“ slouží k nasání určeného objemu do špičky a nastavený řetězec je „1111“. Pro vypouštění tekutiny slouží tlačítko „OUT“, které odešle řetězec „2222“. Nakonec je možné použít tlačítko „REMOVE“ které odešle řetězec ve tvaru „3333“ a uvede do chodu vyhazovací mechanismus. Nastavování požadovaného objemu je prováděno posuvným jezdcem odznačeným jako „Volume“, který odesílá řetězec podle jeho polohy. Maximální hodnota je 1000 a minimální 50.

Pro vykreslení grafu hodnot, například tlaku v pipetě, je nutné upravit program mikrokontroleru a spolu s daty odesílat i název proměnné. Stejný název je zadán v aplikaci, která umožňuje vykreslit několik proměnných do grafu zároveň. Přepínače „Switch“ nejsou v tomto programu využity.

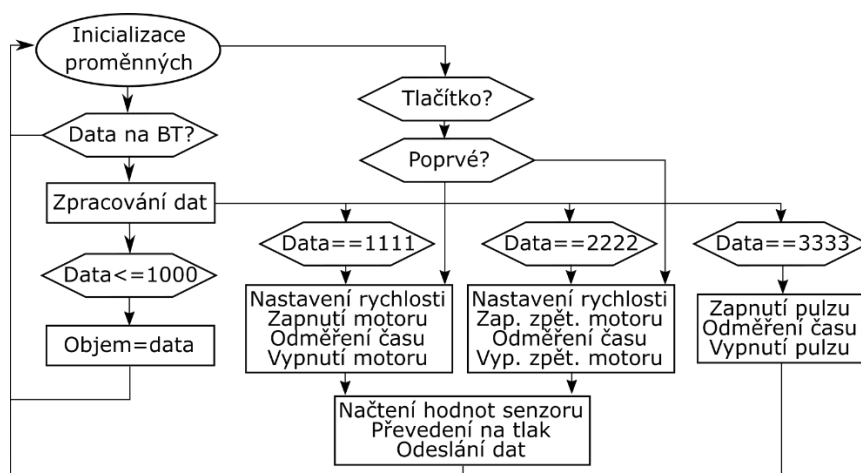


Obr. 32: Příklad aplikace pro Bluetooth komunikaci

3.4.1 Program v prostředí Arduino

Řízení celé pipetovací hlavy probíhá přes mikrokontroler Arduino. Program, který je nahrán v jeho paměti vyhodnocuje vstupy a ovládá výstupy, jako je motor čerpadla nebo vyhazovací mechanismus. Vstupem mikrokontroleru může být testovací tlačítko umístěné na zařízení nebo datový signál z modulu Bluetooth. Dalším vstupem jsou také data z tlakového senzoru, které zařízení odesílá po sériové lince.

V prostředí Arduino IDE, ve kterém je program zpracován, byly využity některé veřejně přístupné knihovny. Jedná se o knihovnu umožňující převádět data z AD převodníku, na který je napojen tlakový senzor. Dále byla použita knihovna na vypočítání průměru z několika načtených hodnot a knihovna k inicializaci sériové komunikace s modulem Bluetooth.



Obr. 33: Diagram algoritmu řídicího programu

Na obr. 33 je znázorněn diagram průběhu smyčky programu. Na počátku jsou načteny a inicializovány všechny proměnné programu. Následuje kontrola, zda nejsou přítomna data na sériové lince modulu Bluetooth nebo není stisknuto testovací tlačítko. V případě dat je provedeno jejich zpracování převedením na číselné hodnoty a uložením do proměnné *data*. Dále je zjištěno, jestli se hodnoty přijatých dat pohybují v rozmezí do 1000. Pokud ano, jedná se o žádaný objem 0-1000 μl a hodnota je uložena do proměnné *volume*. V případě vyšších hodnot je testována konkrétní číselná hodnota. Pokud jsou data rovna 1111 jedná se o signál nasávání. Nejdříve je provedeno nastavení rychlosti motoru čerpadla pomocí PWM signálu. Dále je motor spuštěn a započne odměření času, které závisí na zvoleném objemu uloženém v proměnné *volume*. Po uplynutí času je motor vypnut a algoritmus přechází dále. V případě dat o hodnotě 2222 je vyžadováno vypuštění nasáté tekutiny. Postup je obdobný jako při nasávání, pouze je změněn směr chodu motoru pomocí signálu na řídicím H-můstku. Data o hodnotě 3333 signalizují vyhození jednorázové špičky. To je v případě elektromagnetu provedeno krátkým pulzem do příslušného kanálu řídicího H-můstku. V případě mechanismu s krokovým motorem je vyhození řízeno sepnutím řídicích pinů u příslušného řídicího obvodu. Pokud je detekováno stisknutí tlačítka, je testováno, zda bylo stisknuto poprvé nebo je již tekutina nasátá ve špičce. Na základě tohoto zjištění je spuštěno nasávání nebo vypouštění. Posledním krokem algoritmu je načtení napětí z tlakového senzoru, převedení tohoto napětí na hodnotu tlaku, případně objemu a odeslání těchto dat po sériové lince pro kontrolu nasátého objemu.

3.5 Zpětná vazba tlaku

Při dávkování kapalin s různou viskozitou nebo při nedokonalém nasátí kapaliny může nastat velký rozdíl v přesnosti. Ovládání motoru čerpadla je založeno pouze na odměřené délce času, tudíž nebere v potaz zpětnou vazbu, kterou může být tlak kapaliny v jednorázové špičce. Z tohoto důvodu byl do zařízení přidán tlakový senzor, který monitoruje změny tlaku v prostoru špičky.

3.5.1 Kalibrace tlakového senzoru

V dokumentaci k použitému tlakovému senzoru není uveden jeho přesný princip funkce. Při porovnání se senzory ve stejné cenové kategorii se jedná zřejmě o využití principu piezorezistivity. Jedná se o vlastnost materiálu, který dokáže měnit svůj elektrický odpor při působení tlaku. Po přivedení napájecího napětí získáme změnu napětí na diferenciálních párech odporů. Výrobce senzoru neuvádí křivku závislosti ani kalibrační konstanty k přesnému určení tlaku z napětí. Bylo nutné využít vlastního měření k získání tlakové závislosti.

Na základě textu v [34] bylo k měření tlaku použito manometru z trubice ve tvaru písmene „U“. Tento způsob měření tlaku umožňuje porovnat tlak s hydrostatickým tlakem prostředí a měří jeho rozdíl, tedy podtlak nebo přetlak. Pro minimalizaci odchylky lze použít jako tekutinu rtuť, ale stejných výsledků lze dosáhnout i s použitím netoxické

vody jako oddělovací tekutiny mezi tlaky. Manometr byl sestaven ze silikonové hadičky připevněné do příslušného tvaru a uchycené do držáku. Při vyrovnaném tlaku je hladina tekutiny v hadičce v rovnováze. Pokud je vstupní tlak rozdílný od tlaku hydrostatického, dojde ke zvýšení nebo snížení hladiny a tento rozdíl lze změřit. K tomuto účelu bylo využito posuvného měřidla.

Matematický vztah, který popisuje chování nestlačitelné kapaliny a její proudění je Bernoulliho rovnice. Pro zajištění zákona zachování energie bude v obou bodech manometru rovnice konstantní, ve tvaru:

$$\frac{1}{2} \rho_1 * v_1^2 + p_1 + h_1 * \rho_1 * g = \frac{1}{2} \rho_2 * v_2^2 + p_2 + h_2 * \rho_2 * g \quad (2)$$

Kde ρ je hustota kapaliny v příslušném bodě, v je rychlost proudění, p je tlak v bodě, h je výška hladiny a g je gravitační zrychlení. V případě manometru můžeme uvažovat tlak p_2 jako atmosférický, rychlost proudění nulovou a tlaky v kapalině pod hladinou konstantní. Rozdíl tlaků p_2 a p_1 označíme jako p a upravená rovnice bude mít tento tvar:

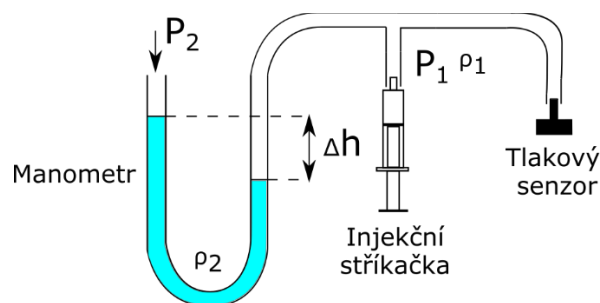
$$p = (\rho_2 - \rho_1) * g * \delta \quad (3)$$

Výsledný relativní tlak p změřený manometrem je závislý na rozdílu hustot vody ρ_2 a vzduchu ρ_1 . Dále je vynásobený gravitačním zrychlením g a rozdílem hladin, označeným jako δ .

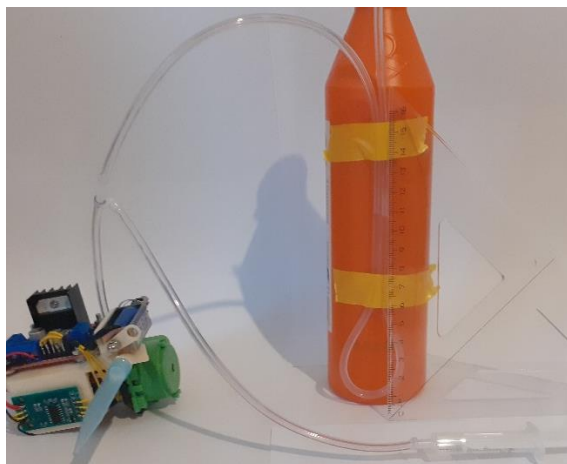
Tlakový senzor pracuje podle dokumentace do maximálního tlaku 40 kPa s rozsahem 50 mV. Senzor je připojen k AD převodníku s rozlišením 24 bitů a zesílením 128. Po přivedení napájecího napětí můžeme očekávat naměřené napětí ze senzoru v rozsahu 0-6,4 V, ale AD převodník omezuje maximální hodnotu na 5 V. Naměřené napětí je závislé na hodnotě z AD převodníku, napájecím napětí a hodnotě zesílení a rozlišení převodníku. Výsledné napětí na senzoru určíme z následující rovnice:

$$U = 5 * \frac{ADC}{128 * 2^{24} - 1} \quad (4)$$

Experimentální měření tlaku probíhalo s využitím manometru a tlakového senzoru, zapojeného dle obr. 34. Použitá hadička byla o vnitřním průměru 2 mm a délce asi 50 cm. Na konci manometru byl připojen spojovací prvek, do kterého byl přiváděn tlak pomocí injekční stříkačky. Na jeho druhém konci byla vedena hadička směrem do tlakového senzoru.



Obr. 34: Schéma sestavy pro měření tlaku manometrem



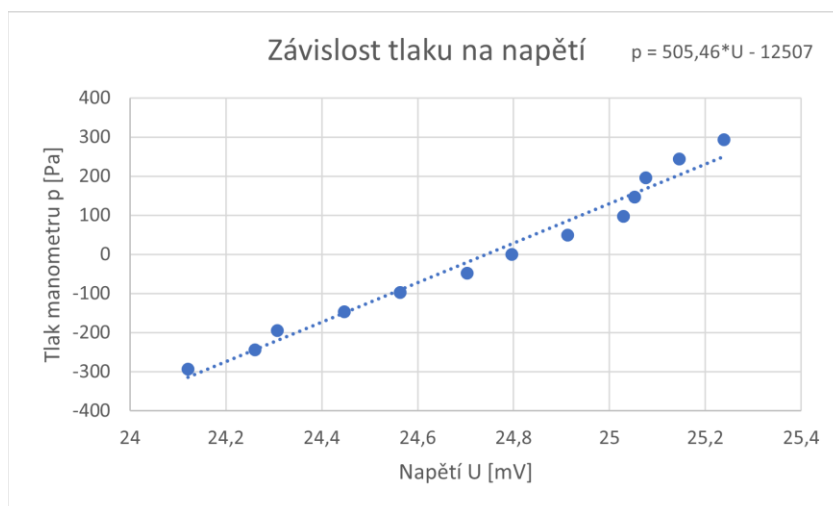
Obr. 35: Sestava pro měření tlaku manometrem

Hodnoty ze senzoru byly převedeny AD převodníkem na vhodné napětí, a to bylo změřeno mikrokontrolerem, kde byly hodnoty zaznamenány do tabulky. Rozdíly v hladinách tekutiny Δh byly odečteny posuvným měřidlem a rovněž zaznamenány do tabulky. Z hodnot AD převodníku bylo vypočítáno napětí U podle (4) a z rozdílů hladin relativní tlak p podle (3).

Tab. 1: Hodnoty naměřeného tlaku a napětí

Δh [mm]	ADC [10^4]	U [mV]	p [Pa]
-30	1036	24,12125	-293,063
-25	1042	24,26095	-244,219
-20	1044	24,30752	-195,375
-15	1050	24,44722	-146,531
-10	1055	24,56363	-97,6876
-5	1061	24,70333	-48,8438
0	1065	24,79646	0
5	1070	24,91288	48,84379
10	1075	25,02929	97,68759
15	1076	25,05258	146,5314
20	1077	25,07586	195,3752
25	1080	25,14571	244,219
30	1084	25,23884	293,0628

Na grafu hodnot (obr. 36) můžeme pozorovat lineární závislost tlaku na napětí senzoru. Kalibrovaný senzor má nulovou hodnotu tlaku kolem napětí 24,8 mV oproti očekávané hodnotě 25 mV zmíněné v dokumentaci. Tento rozdíl není významně podstatný pro výsledné hodnoty tlaku.



Obr. 36: Graf závislosti tlaku na napětí

Pomocí metody lineární aproximace můžeme vyjádřit tuto závislost jako rovnici. Napětí vypočítáme ze vztahu (4) a dosadíme do aproximace. Napětí U dosazujeme v jednotkách mV a tlak p vyjde v Pa. Výsledná rovnice pro tlak je:

$$p = 505,46 * U - 12507 \quad (5)$$

3.5.2 Převod tlaku na objem

Aby bylo možné zhodnotit přesnost dávkování, bylo nutné převést hodnoty tlaku na objem tekutiny nasáté ve špičce. V případě podtlaku, který vytváří čerpadlo, je tento podtlak rovný hydrostatickému tlaku, kterým působí vodní sloupec tekutiny ve špičce. Tento vztah můžeme vyjádřit rovnicí pro hydrostatický tlak (6), kde h je výška vodního sloupce, ρ odpovídá hustotě tekutiny, v tomto případě vody, a g je gravitační zrychlení.

$$p = h * \rho * g \quad (6)$$

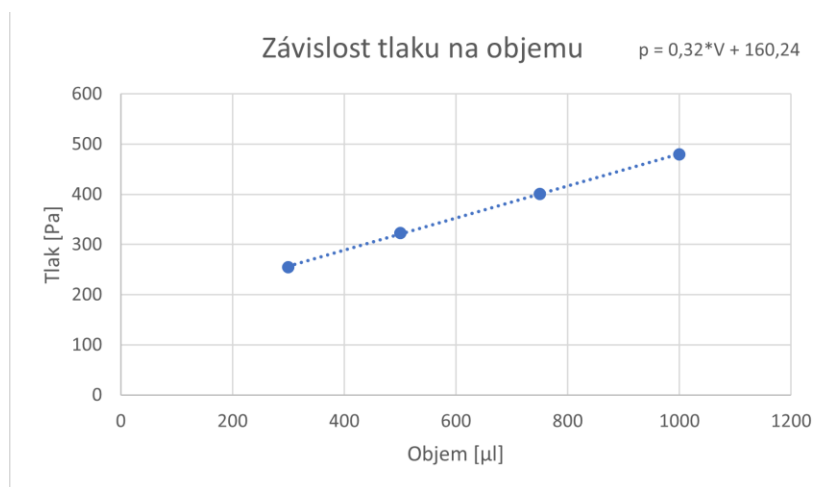
Sloupec vody můžeme měřit například posuvným měřidlem pro různé objemy tekutiny a hodnoty doplňovat do tabulky. Tabulka naměřených hodnot spolu s vypočítanými tlaky a odpovídajícími žádanými objemy je zde:

Tab. 2: Naměřené hodnoty výšky hladiny a žádaného objemu

V[μl]	h[mm]	p[Pa]
300	26	254,29
500	33	322,76
750	41	401
1000	49	479,25

Hodnoty z tabulky můžeme převést na graf závislosti tlaku na žádaném objemu, který je na obr. 37. Z něj je patrná lineární závislost obou hodnot a stejně jako při závislosti tlaku na napětí tlakového senzoru můžeme body v grafu proložit aproximační přímkou. Její rovnice bude mít po úpravě pro objem následující tvar:

$$V = \frac{p-160,24}{0,32} \quad (7)$$



Obr. 37: Graf závislosti tlaku na žádaném objemu

3.6 Přesnost dávkování

V případě navrhované automatické pipetovací hlavy je přesnost dávkované tekutiny závislá na mnoha faktorech. Prvním z nich může být viskozita nasávané tekutiny. V případě vody, na kterou je zařízení kalibrováno, není viskozita dominantním faktorem, ale v případě tekutin s větší viskozitou může dojít k rozdílu žádaného objemu od skutečného. Tento rozdíl je způsoben nedokonalou zpětnou vazbou od senzoru tlaku a nastavením času chodu čerpadla.

Dalším faktorem ovlivňujícím přesnost jsou netěsnosti. V případě samotné pipety se mohou netěsnosti vyskytovat zejména ve spoji mezi ústím pipety a jednorázovou špičkou. Těsnost tohoto spojení závisí na rozměrech dílu i na úpravě povrchu materiálu. Na těle pipety mimo špičku může také docházet k úniku podtlaku i kapaliny skrz miniaturní otvory v porézním materiálu. Tuto vlastnost částečně minimalizovala úprava povrchu pomocí výparů acetonového rozpouštědla, ale ne zcela dokonale. Kritickým místem je i propojení hadičky vedoucí směrem k čerpadlu s pipetou. V tomto spoji je hadička rozšířena na průměr pipety, ale povrch nemusí být upraven dokonale, a v tomto místě může docházet k únikům tlaku.

Samotné čerpadlo je taktéž kritickým místem pro přesnost. Klíčové je, aby po dokončení nasávání zůstaly válce rotoru v takové pozici, aby udržely stačenou hadičku a v ní potřebný podtlak. Částečně je toho docíleno již z výroby, kdy je vložená flexibilní hadička v těle čerpadla dostatečně stlačena válečky. Zvýšit tuto udržitelnost tlaku by bylo možné nahrazením stávajících válečků rotoru za válečky s větším průměrem nebo upravením vnitřních prostor čerpadla, kde se pohybuje rotor.

Aby bylo možné vyhodnotit přesnost zařízení, bylo provedeno měření dávkovaného objemu. Konstrukce pipetovací hlavy byla upevněna nad nádobu s čistou vodou. Program v mikrokontroleru byl nastaven na několik nasávání a vypouštění

stejného objemu. Žadáný objem tekutiny byl z nádoby nasáván do jednorázové špičky, poté byla pipeta se špičkou přemístěna nad druhou připravenou nádobu, která byla prázdná a vyčištěná od zbytků tekutiny z předchozího měření. Veškerá kapalina ze špičky byla vypuštěna do nádoby a pipeta byla uložena zpět do počáteční pozice.

Množství kapaliny v nádobě bylo měřeno pomocí injekční stříkačky určené k dávkování inzulínu. Tato stříkačka má maximální objem 1 ml a dílky na její stupnici jsou děleny po objemu 10 μl . Kapalina z nádoby byla nasáta do injekční stříkačky a ze stupnice byla odečtena hodnota objemu. Použitá nádoba byla o maximálním objemu 40 ml, tudíž bylo nutné důkladně nasát všechny zbytky tekutiny, které zůstaly na dně nádoby. Tento postup může mít vliv na celkovou chybu měření.

Zvolené objemy byly v rozsahu 100 až 400 μl v hodnotách po 50 μl . Celkem bylo provedeno 10 dávkování a měření od každého objemu. V případě, kdy byl objem tekutiny na stupnici injekční stříkačky mezi hodnotami, byl výsledný objem určen jako průměr sousedních hodnot dílů stupnice. Naměřené hodnoty byly zaznamenány do následující tabulky.

Tab. 3: Naměřené hodnoty objemu

V[μl]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
100	90	95	95	90	90	100	90	90	95	100
150	145	140	150	140	140	130	145	135	140	140
200	195	210	195	190	190	200	195	200	190	195
250	245	245	255	260	240	255	250	265	260	245
300	280	310	310	305	310	300	305	295	300	305
350	360	360	335	360	350	345	340	355	340	350
400	410	415	390	405	410	395	415	405	400	400

V levém sloupci jsou hodnoty objemu, které byly nastaveny v programu mikrokontroleru pomocí rozhraní Bluetooth. V dalších sloupcích jsou naměřené hodnoty injekční stříkačkou podle čísla prováděného měření. Na grafu (obr. 38) jsou znázorněné hodnoty vykresleny a můžeme na něm pozorovat konkrétní přesnost dávkování v různých objemech. Největší rozdíl mezi žadáným a změřeným objemem bylo 20 μl při objemu 300 μl což je rozdíl 6,7 % od žadané hodnoty.



Obr. 38: Graf žádaného a naměřeného objemu

Z tabulky naměřených hodnot můžeme určit aritmetický průměr naměřených objemů a směrodatnou odchylku pro jednotlivé žádané objemy. Tyto vypočítané hodnoty jsou v tab. 4.

Tab. 4: Průměr a směrodatná odchylka naměřených hodnot

Žádaný objem	Průměr hodnot	Směrodatná odchylka
100	93,5	1,30
150	140,5	1,74
200	196,0	1,94
250	252,0	2,60
300	302,0	2,91
350	349,5	2,93
400	404,5	2,63

Z této tabulky můžeme určit, pro který objem bylo dávkování nejpřesnější. Pro žádaný objem 350 μl byla naměřená hodnota objemu $349,5 \pm 2,93$ μl. Největší rozdíl žádaných a naměřených hodnot byl při objemu 150 μl, kde bylo naměřeno $140,5 \pm 1,74$ μl.

Pro zjištění opakovatelnosti dávkování bylo provedeno měření několika cyklů nasávání a vypouštění. Pipetovací hlava byla umístěna na držák nad nádobu s čistou vodou. Na pipetu byla upevněna jednorázová špička a ponořena z poloviny do tekutiny. Program řídicího mikrokontroleru byl upraven tak, aby probíhalo nasávání a vypouštění stejného objemu ihned po sobě. Zvolené objemy byly 200 μl, 250 μl a 300 μl z důvodu toho, že v tomto rozsahu hodnot bude pipetovací hlava používána. Počet cyklů byl stanoven na 50 a po nasátí tekutiny v posledním cyklu byl obsah špičky vypuštěn do prázdné nádoby. Z této nádoby byla veškerá tekutina nasáta do injekční stříkačky

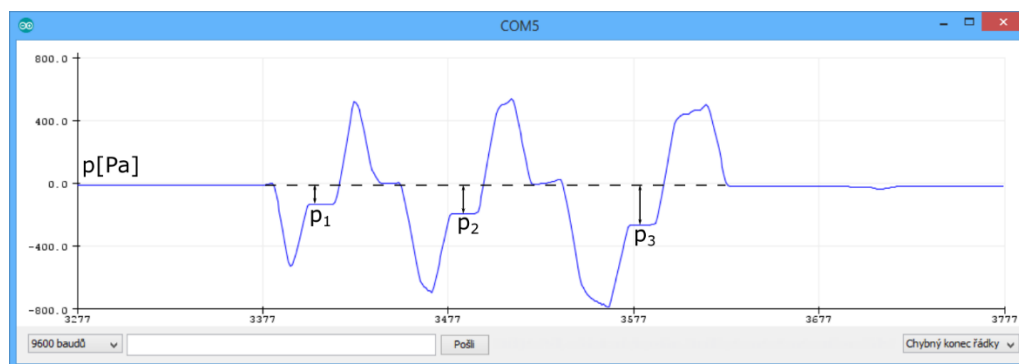
a naměřený objem byl zaznamenán do tabulky (tab. 5). Mezi cykly byla nádoba na měření konečného objemu vyčištěna od zbytků předcházející tekutiny.

Tab. 5: Žádané a naměřené hodnoty objemu po cyklu $n = 50$

Žádaný[μl]	Změřený[μl]
300	330
250	270
200	220

Po tomto měření můžeme z tabulky určit, že při žádaném objemu 300 μl byl objem ve špičce po 50 cyklech 330 μl , což se z měřených objemů liší nejvíce.

K určení přesnosti navrhované pipetovací hlavy můžeme využít i tlakový senzor umístěný na zařízení jako zpětná vazba tlaku v pipetě. Data z tohoto senzoru jsou odesílána po sériové lince při každém provedeném nasávání tekutiny. Na obr. 39 je graf průběhu tlaku v senzoru při nasávání různých objemů tekutiny. Tlak na levé svislé stupnici je v jednotkách Pa a vyjadřuje relativní podtlak ve špičce vůči okolnímu atmosférickému tlaku. Vodorovná osa nereprezentuje hodnoty v časových jednotkách. Čas mezi body na této ose závisí na frekvenci, se kterou jsou data odesílána. Tato frekvence je měřitelná mezi dvěma spuštění funkcí, které data odesílají. Tyto funkce jsou v programu volány při každém průchodu základním cyklem. V případě použitého mikrokontroleru Arduino je tato frekvence 117 kHz [35].



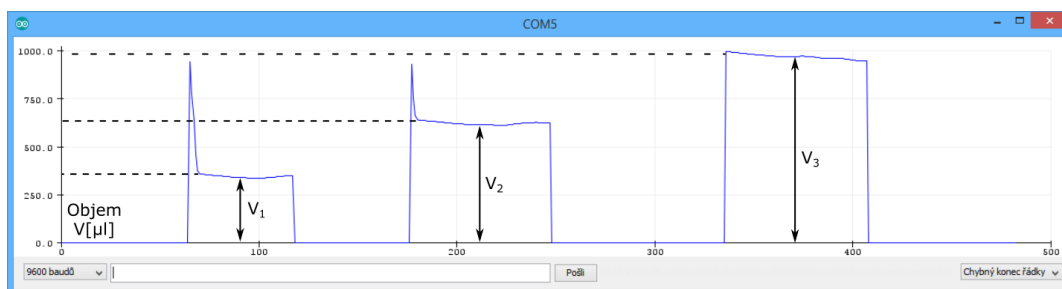
Obr. 39: Průběh tlaku ve špičce pipety

Při zahájení nasávání dojde k velkému nárůstu tlaku, který je způsoben aktivní činností čerpadla. Vrchol křivky nárůstu je v okamžiku, kdy je čerpadlo zastaveno a podtlak se zmenšuje až na hodnotu nutnou k udržení tekutiny ve špičce. Tato hodnota ($p_1/p_2/p_3$) určuje, jaký objem tekutiny se momentálně nachází ve špičce. Pro převedení tohoto tlaku na objem můžeme použít například zmíněnou rovnici (7). Při vypouštění je po spuštění zpětného chodu čerpadla opět viditelný nárůst tlaku, tentokrát do kladných hodnot přetlaku. Vrchol křivky nastává v okamžiku zastavení čerpadla a přetlak se dále snižuje až do hodnoty atmosférického tlaku.

V grafu je patrné jemné klesání hodnoty tlaku v klidu po nasátí tekutiny. To je způsobeno netěsnostmi ve spojích hadiček, rotoru čerpadla a v kontaktu pipety se

špičkou. Toto klesání podtlaku způsobuje pozvolnou tvorbu kapičky tekutiny v ústí špičky a je nutné jej brát v potaz pro minimalizaci případné kontaminace prostředí pipety nasátou tekutinou.

Pokud využijeme rovnici pro převod tlaku na objem a zaneseme jí do programu mikrokontroleru, bude graf hodnot, které jsou odesílány na sériovou linku, vypadat jako na obr. 40.



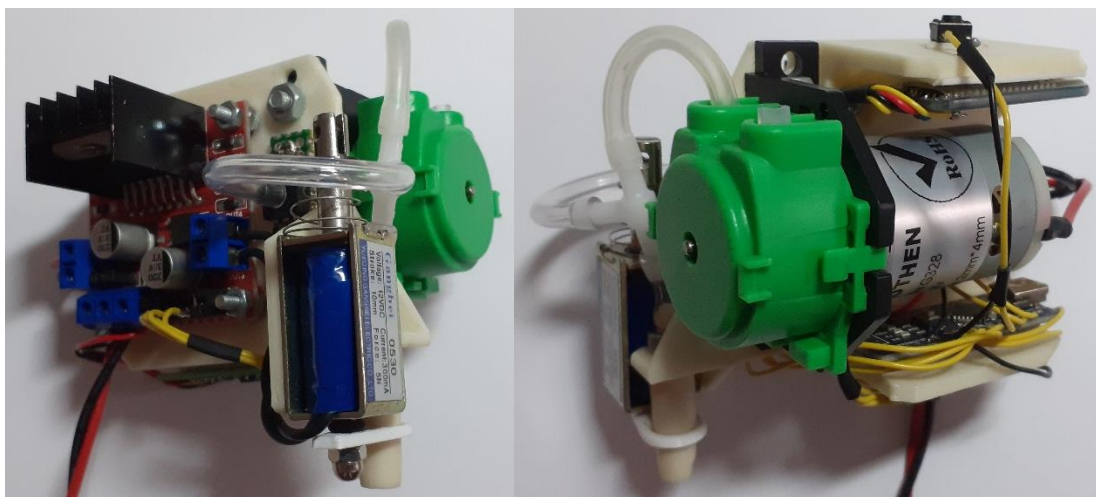
Obr. 40: Průběh hodnot objemu ve špičce

Stejně jako v případě tlaku jsou v grafu hodnot objemu viditelné skokové nárůsty. Přepočtení objemu je závislé na hodnotách tlaku, tudíž i objem probíhá v čase stejně jako tlak. Hodnoty objemu byly v programu mikrokontroleru upraveny podmínkou, která omezuje maximální hodnotu na 1000, jelikož se jedná o maximální objem, který je možné do použité jednorázové špičky nasát. Také byly vyřazeny hodnoty objemu, které byly záporné nebo nad stanovený limit.

Ve výsledném grafu můžeme stanovit odečtem ze svislé osy odhadovaný objem, který byl vypočítán ze změřeného tlaku. V grafu je první požadovaný objem V_1 hodnoty 300 μl , následující objem V_2 byl nastaven na hodnotu 600 μl a objem V_3 byl požadován v hodnotě 900 μl . Rozdíly v hodnotách odečtených z grafu a žádaných objemech jsou způsobeny zmíněnými nepřesnostmi v měření tlaku a jeho převodu na objem.

4 ZHODNOCENÍ

Automatická pipetovací hlava vytvořená v této práci umožňuje dávkovat velmi malé objemy tekutin. Při nasávání tekutiny v rozsahu objemů 200-300 μl je využito optimální přesnosti. Na základě provedených měření je v tomto rozsahu přesnost naměřeného objemu nejčastěji v toleranci $\pm 10 \mu\text{l}$ a v některých případech až $\pm 20 \mu\text{l}$. Při měření opakovatelnosti byla zjištěna maximální změna objemu o 10 % po 50 cyklech.



Obr. 41: Výsledná podoba zařízení

Zmíněná přesnost je ovlivněna několika faktory. Zejména závisí na těsnosti spoje mezi jednorázovou špičkou a tělem pipety. Tato těsnost může být ovlivněna samotnými rozměry a tvarem pipety, ale i úpravou jejího povrchu. Z požadavků zadání není možné připevnit špičku pevným spojem z důvodu nutnosti výměny špiček pomocí vyhazovacího mechanismu. Dalším faktorem je těsnost spojů hadičky, které závisí na čistotě povrchu a dostatečném zasunutí na příslušný průměr. Kritický spoj je zejména na pipetě, kde je těsnost ovlivněna kvalitou 3D tisku.

Použité peristaltické čerpadlo udržuje podtlak v pipetě pomocí stlačení silikonové hadičky válečky rotoru. Zde vzniká podstatný únik podtlaku z pipety z důvodu nedokonalého stlačení. Po určité době používání se zde bude únik zvětšovat, jakmile dojde k degradaci vlastností silikonové hadičky a ztrátě její flexibility z důvodu konstantního stlačování válečky.

Po nasátí tekutiny do špičky lze pozorovat postupné snižování podtlaku v pipetě a tvorbu kapičky tekutiny na ústí špičky. To je pro použití nežádoucí a může dojít k oddělení kapičky a kontaminaci dalších vzorků nebo prostředí laboratoře. Při pipetování se pohybuje automatická hlava mezi vzorkem, ze kterého je tekutina nasávána, k místu, kde dochází k vypouštění. Tento pohyb probíhá relativně rychle a při správném nastavení a seřízení zařízení lze tvorbu kapiček oddálit tak, že se kapka neoddělí od špičky v době přesunu hlavy mezi vzorky. Pozorovaný čas, ve kterém dojde k oddělení kapičky je

v ideálních podmínkách až 10 s. To závisí na momentální těsnosti systému i na velikosti objemu tekutiny ve špičce.

K nasávání tekutin lze využít univerzální jednorázové špičky. Pro objemy do 1000 μl slouží špička ve světle modré barvě bez filtru. Pro její rozměry byla navržena vytvořená pipeta.

Vyhazovací mechanismus sloužící k výměně jednorázové špičky využívá elektromagnet a v druhé verzi krokový motor s lineárním pohonem. Při použití elektromagnetu není vždy vyvinutá síla dostatečná k odhození špičky. V programu mikrokontroleru lze výkon elektromagnetu ovlivnit pomocí PWM signálu nebo impulz několikrát opakovat, dokud není špička mimo pipetu. Zvýšit výkon lze přivedením vyššího napětí do elektromagnetu nebo pomocí obvodu s kondenzátorem, který lze využít k impulznímu zvýšení napětí a proudu.

Mechanismus s krokovým motorem vyvíjí dostatečnou sílu k odhození špičky ve většině případů. Jeho spolehlivost závisí na pohybu vyhazovacího adaptéru po těle pipety a po vodící tyči. Zde může docházet k velkému tření při pohybu, které je způsobeno nedokonalostí vyrobeného dílu i velkou silou od rotace motoru a šroubu, která částečně díl deformuje. Tento problém lze vyřešit vhodnějším návrhem mechanismu nebo přidáním paralelního motoru, který ale negativně ovlivní celkovou váhu zařízení.

Měření tlaku je zatíženo chybou samotného senzoru i zmíněnými úniky tlaku. AD převodník signálu senzoru je citlivý na šum, který může ovlivnit prostředí i samotné komponenty zařízení. Zejména při spouštění elektromagnetu nebo krokového motoru dochází k tvorbě šumu, který je způsoben měnícím se indukovaným proudem v jejich cívkách. Další šum vytváří i elektromagnetické vlny šířící se od rozhraní Bluetooth.

Řídicí mikrokontroler Arduino i Bluetooth modul zajišťující řízení pipetovací hlavy během testování zařízení pracovaly správně. Pomocné moduly řízení motorů a elektromagnetu lze redukovat na menší rozměry použitím jiných součástek, a tím snížit celkovou váhu zařízení, která je pro použití kritická. Maximální limit pro použití byl stanoven na 500 g, přičemž váha výsledného zařízení není větší než 270 g.

5 ZÁVĚR

V úvodu byla provedena rešerše konstrukce automatických pipetovacích hlav. Na základě informací získaných z této rešerše byla navrhnutá pipetovací hlava s využitím peristaltického čerpadla. Vybrané komponenty byly popsány a jejich výběr zdůvodněn. Ke zpětné vazbě bylo využito tlakového senzoru, který monitoruje podtlak v pipetě. K řízení slouží mikrokontroler Arduino, který využívá ke komunikaci modul s rozhraním Bluetooth. Tekutina je nasávána do jednorázových špiček, které lze s využitím vyhazovacího mechanismu automaticky vyměnit. Byly navrhnuty a vyrobeny dva různé vyhazovací mechanismy s využitím elektromagnetu a krokového motoru s lineárním posunem a byla provedena zkouška jejich funkčnosti.

S využitím 3D tisku byl zkonstruován prototyp zařízení. Podle rozměrů použitých jednorázových špiček byla navrhnutá a vyrobena pipeta, kterou je možné v případě potřeby vyměnit. Řízení a nastavení požadovaného objemu probíhá přes instrukce odeslané po sériové lince rozhraní Bluetooth. Data z tlakového senzoru jsou odesílána do řídicího zařízení a lze pomocí nich určit nasátý objem tekutiny ve špičce.

Na vytvořeném zařízení byla provedena měření přesnosti dávkování a opakovatelnosti. Výsledná chyba v odměřování objemu byla vyhodnocena s důrazem na požadovaný rozsah objemů. Prototyp splňuje požadavky zadání a umožňuje dávkování tekutiny v laboratoři s danou přesností. Po připevnění k robotickému manipulátoru dokáže plnit úkoly automatické pipety.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KONG, Fanwei, Liang YUAN, Yuan F. ZHENG a Weidong CHEN. Automatic Liquid Handling for Life Science. *Journal of Laboratory Automation*. 2012, 17(3), 169-185. ISSN 2211-0682. Dostupné z: doi:10.1177/2211068211435302
- [2] JETHA, Nahid N. a Andre MARZIALI. Liquid-Handling Technology and the Method of Electrostatic Drop Transfer to Improve Dispensing Performance. *Journal of the Association for Laboratory Automation*. 2006, 11(4), 278-280. ISSN 15355535. Dostupné z: doi:10.1016/j.jala.2006.05.010
- [3] Pipettes. Biocompare [online]. [cit. 2021-04-09]. Dostupné z: <https://www.biocompare.com/Molecular-Biology/7325-Pipettes-Pipettors/>
- [4] Micropipette plus. Labtechnik [online]. [cit. 2021-04-09]. Dostupné z: https://www.labtechnik.cz/fotky45743/fotos/45743_624_45743_623_45743_622_45743_621__vyr_609micropette_plus.png
- [5] Pipette tips. Biocompare [online]. [cit. 2021-5-14]. Dostupné z: <https://media.biocompare.com/m/37/product/4231592-400x300.jpg>
- [6] Air vs. Positive Displacement Pipettes. ThermoFisher Scientific [online]. [cit. 2021-04-09]. Dostupné z: <https://www.thermofisher.com/cz/en/home/life-science/lab-plasticware-supplies/lab-plasticware-supplies-learning-center/lab-plasticware-supplies-resource-library/fundamentals-of-pipetting/liquid-handling-selection/air-vs-positive-displacement-pipettes.html>
- [7] Positive Displacement Pipette. Pipette.com [online]. [cit. 2021-04-09]. Dostupné z: <https://www.pipette.com/positivedisplacementpipette>
- [8] Práce s různými druhy pipet. *Laboratorní Technika: PED MUNI* [online]. [cit. 2021-5-14]. Dostupné z: https://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/labtech/pages/prace_pipetami.html
- [9] Matrix Wellmate: Product Specification. *Thermo Fisher Scientific* [online]. 2008 [cit. 2021-5-14]. Dostupné z: <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D10535~.pdf>
- [10] SOLO Liquid Handler. *Hudson Robotics* [online]. [cit. 2021-5-14]. Dostupné z: <https://hudsonrobotics.com/products/liquid-handling/solo-liquid-handling/>
- [11] Pin tool. V&P Scientific [online]. [cit. 2021-04-09]. Dostupné z: <http://vp-sci.com/media/catalog/product/cache/1/image/650x/040ec09b1e35df139433887a97daa66f/a/f/afix96fp11a.jpg>
- [12] Peristaltic pump guide. *Castle pumps* [online]. [cit. 2021-5-14]. Dostupné z: <https://www.castlepumps.com/info-hub/peristaltic-pump-guide/>
- [13] Grothen G328 Peristaltické čerpadlo 12V. *Laskarduino* [online]. [cit. 2021-5-14]. Dostupné z: <https://www.laskarduino.cz/grothen-g328-peristalticke-čerpadlo-12v/>
- [14] Grothen G328 Pump. *Makeblock* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: http://learn.makeblock.com/cn/wp-content/uploads/2016/01/%E5%BE%AE%E4%BF%A1%E6%88%AA%E5%9B%BE_20160128112231-300x152.png
- [15] Product manual. *Kamoer* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <http://kamoer.com/upload/file/202103/1614741774795263.pdf>
- [16] *Aurora Microplates* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://auroramicroplates.com/>
- [17] LEE, Eunjung, Byeongyeon KIM a Sungyoung CHOI. An open-source programmable smart pipette for portable cell separation and counting. *RSC Advances*. 2019, 9(71), 41877-41885. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C9RA08368E

- [18] FAIÑA, Andres, Brian NEJATI a Kasper STOY. EvoBot: An Open-Source, Modular, Liquid Handling Robot for Scientific Experiments. *Applied Sciences*. 2020, 10(3). ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app10030814
- [19] L298N: Datasheet. *GME* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://www.gme.cz/data/attachments/dsh.332-005.1.pdf>
- [20] H-můstek s L298N. *GME.cz* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: https://www.gme.cz/data/product/1024_1024/pctdetail.772-334.1.jpg
- [21] VODA, Zbyšek. *Průvodce světem Arduina*. Bučovice: Martin Stříž, 2015. ISBN 978-80-87106-90-7.
- [22] Arduino nano. *Farnell* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: https://cz.farnell.com/productimages/large/en_GB/1848691-40.jpg
- [23] Pressure Sensor MPS20N0040D-S: Datasheet. *Soft Robotics Toolkit* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: https://softroboticstoolkit.com/files/sorotoolkit/files/mps20n0040d-s_datasheet.pdf
- [24] *MPS20N0040D-S* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://ae01.alicdn.com/kf/H2a5d6d1d413745cb92bfd140dc4cecd9d.jpg>
- [25] HX711: Datasheet. *Sparkfun* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: https://cdn.sparkfun.com/datasheets/Sensors/ForceFlex/hx711_english.pdf
- [26] HX711 modul. *Pajenicko* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: https://pajenicko.cz/image/cache/catalog/komponenty/senzory/hx711_kit_20kg/hx711_kit_top-550x550.jpg
- [27] Bluetooth radio versions. *Bluetooth.com* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://www.bluetooth.com/learn-about-bluetooth/radio-versions/>
- [28] HC-05 - Bluetooth Module. *Components 101* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://components101.com/wireless/hc-05-bluetooth-module>
- [29] HC-05 modul. *HWpro* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: https://www.hwpro.cz/oc/image/cache/catalog/produkty/HC05_20-800x600.jpg
- [30] Solenoid JF-0530B. *HWpro* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: https://www.hwpro.cz/oc/index.php?route=product/product&product_id=641
- [31] H-můstek modul L9110S: Datasheet. *Eclipsa* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://www.gme.cz/data/attachments/dsh.772-209.1.pdf>
- [32] L9110 Motor Driver. *Makerlab Electronics* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://www.makerlab-electronics.com/wp-content/uploads/2017/08/L9110-Motor-Driver-01.jpg>
- [33] AnalogWrite function: Reference. *Arduino* [online]. [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://www.arduino.cc/reference/en/language/functions/analog-io/analogwrite/>
- [34] HRISKO, J. MPS20N0040D Pressure Sensor Calibration with Arduino. *Maker Portal* [online]. 2020 [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://makersportal.com/blog/2020/6/4/mps20n0040d-pressure-sensor-calibration-with-arduino>
- [35] Arduino Speed Test. *Sparkfun* [online]. 2014 [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <https://learn.sparkfun.com/blog/1687>